

München, 1960.

**Der Einfluß
wachstumswirksamer Substanzen
auf den Nukleinsäurestoffwechsel der Ratte**

Gert Kleist

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. Dr. Johannes Brüggemann

DER EINFLUSS WACHSTUMSWIRKSAMER SUBSTANZEN
AUF DEN NUKLEINSÄURESTOFFWECHSEL DER RATTE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Gert Kleist
aus
Friedberg/Schwaben

München 1960

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Zipf

Referent: Professor Dr. Dr. Johs. Brüggemann

Tag der Promotion: 26. II. 1960

MEINEN
LIEBEN ELTERN



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
B. Literatur	4
1. Aureomycin	4
2. Vitamin B ₁₂	12
3. Tween 60	20
C. Problemstellung	23
D. Versuchsanstellung	24
1. Prinzip der Methode	24
2. Auswahl der Tiere	24
3. Applikation der Stoffe	25
4. Aufarbeitung	26
5. Ergebnis des Vorversuchs	29
6. Chemische Bestimmungsverfahren	31
7. Eichkurvenaufstellung	33
8. Berechnungsbeispiel	36
E. Ergebnisse	39
1. Aureomycinversuch	39
2. Vitamin B ₁₂ - Versuch	48
3. Tween 60 - Versuch	56
F. Diskussion	65
1. Aureomycinversuch	65
2. Vitamin B ₁₂ - Versuch	67
3. Tween 60 - Versuch	69
G. Zusammenfassung	71
H. Literaturangaben	72



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554020_0094

A. EINLEITUNG

Die drei organischen Hauptbestandteile der tierischen Nahrung sind Kohlehydrate, Fett und Eiweiß. Noch im 19. Jahrhundert glaubte man, daß damit unter Zusatz von gewissen Mineralstoffen ein Tier optimal gedeihen könnte. Justus von Liebig stellte in seinem zweiten 1842 veröffentlichten Buch (61) heraus, ein Futter müsse folgende Substanzen enthalten:

- 1.) Wärmebildende Stoffe oder Respirationsmittel, Fette, Stärke.
- 2.) Stickstoffhaltige oder plastische Substanzen, aus denen sich Blut und Fleisch aufbaut.
- 3.) Mineralstoffe, welche die Knochen bilden.

Im Experiment zeigte sich aber, daß eine lediglich nach diesen Gesichtspunkten zusammengestellte Nahrung schwerste Ausfallserscheinungen zur Folge hatte. Es mußten hier also noch Stoffe fehlen, die in kleinsten Mengen lebenswichtige Funktionen erfüllen. Man nannte diese als Biokatalysatoren wirkenden essentiellen Verbindungen Vitamine.

Später entdeckte man neben diesen lebensnotwendigen Wirkstoffen noch Substanzen, die darüber hinaus am gesunden Organismus Leistungssteigerungen bedingten. So fanden als wachstumsstimulierende Biokatalysatoren in den letzten Jahren die Antibiotika Penicillin, Streptomycin und vor allem Aureomycin, der "Animal Protein Factor", die Vitamine A und B₁₂ und neuerdings auch teilweise oberflächenaktive Stoffe in die Tierernährung festen Eingang.

Da an der Wachstumswirksamkeit dieser Stoffe, wie die im Literaturteil aufgeführten Versuche zeigen, bald kein Zweifel mehr bestand, verlagerte sich die Diskussion mehr und mehr auf die biochemische Wirkungsweise, Einwirkung auf Bakterien, Resorptionsverbesserung und Beeinflussung des intermediären Stoffwechsels wurden und werden in diesem Zusammenhang genannt.

Auch für die hier herausgegriffenen Stoffe Aureomycin, Vitamin B₁₂ und die oberflächenaktive Substanz Tween 60 ist nach dem gegenwärtigen¹² Literaturstand noch nicht eindeutig gesichert, wie man sich den Wachstumseffekt zu erklären hat.

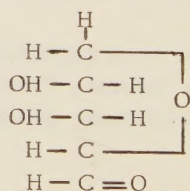
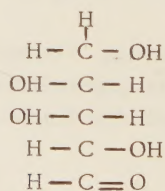
Wie später in dem Abschnitt Problemstellung näher ausgeführt wird, ist das Wachstum eng mit Stoffwechselvorgängen der Nukleinsäuren im Organismus verknüpft.

Der Begriff Nukleinsäure wurde im Jahre 1889 von Altmann (65) eingeführt. Man versteht heute hierunter den eiweißfreien Bestandteil der Nukleoproteide, die in jeder Körperzelle vorhanden sind.

Inzwischen hat diese Begriffsdefinition, die bis heute noch nicht scharf abgegrenzt ist, eine wesentliche Einengung erfahren. Allgemein faßt man unter Nukleinsäuren eine Gruppe von Verbindungen zusammen, die durch Verkettung zahlreicher Grundbausteine der sogenannten Mononukleotide gebildet werden, wobei ein Mononukleotid sich aus einem Purin- bzw. Pyrimidin-, einem Kohlehydrat- und Phosphorsäureanteil zusammensetzt. Vereinigen sich vier Nukleotide mit verschiedenen Basen, z.B. Adenin, Cytidin, Guanin und Uridin (in der Hefenukleinsäure) oder Adenin, Cytidin, Guanin und Thymin (in der Thymonukleinsäure), so entstehen Tetranukleotide. Man nimmt an, daß durch eine kettenförmige Aneinanderreihung einer großen Zahl von Tetranukleotiden die hochmolekularen Nukleinsäuren aufgebaut werden. Das Verhalten gegen spezifische Enzyme und die Zusammensetzung aus den einzelnen Basen zeigt, daß in Desoxyribonukleinsäure ganz sicher keine getrennte Tetranukleotidstruktur vorliegt (66).

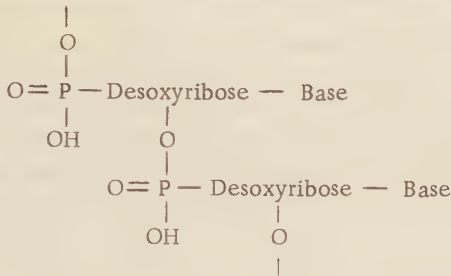
Genauere Erläuterungen über den chemischen Aufbau der Nukleinsäuren sind zu finden bei: Chargaff, E., Davidson, J.N.: The Nucleic Acids (Chemistry and Biology), Academic Press Inc., Publishers New York 1955. Flaschenträger, B., Lehnartz, E.: Physiol. Chemie, Springer-Verlag 1954.

Man unterscheidet allgemein Desoxyribonukleinsäure (DNS) und Ribonukleinsäure (RNS); DNS mit D-2-Desoxyribose und RNS mit D-Ribose als Zuckerbestandteil. Damit ergeben sich folgende Strukturbilder:



Da aber außer Desoxyribose und Ribose möglicherweise auch noch andere Pentosen in Nukleinsäuren vorkommen, spricht man auch von Desoxypentosenukleinsäure und Pentosenukleinsäure. (67)

Die Verknüpfung der einzelnen Bausteine der hochpolymeren Nukleinsäuren erfolgt durch Phosphor-Sauerstoff-Brückenbildung. Der schematische Bau einer Nukleinsäure, hier als Beispiel DNS, kann folgendermaßen wiedergegeben werden:



Nach Siegner und Mitarbeitern (68) liegt das Molekulargewicht der DNS in der Größenordnung von 500 000 bis 1 000 000, das der RNS bei etwa 20 000.

Bezüglich der biologischen Bedeutung der Nukleinsäuren sei hier auf den ausführlichen Literaturteil der Dissertationsschrift Schaffrath (69) verwiesen.

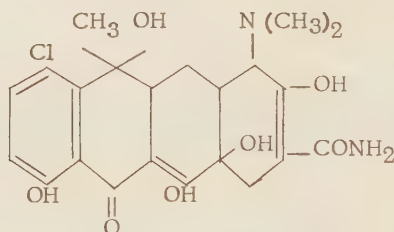
Nukleinsäuren sind in tierischen Geweben nach ihrer Extraktion und hydrolytischen Spaltung über ihre Pentoseanteile quantitativ bestimmbar. Es ergibt sich somit die Möglichkeit, den Einfluß von Aureomycin, Vitamin B₁₂ und der oberflächenaktiven Substanz Tween 60 auf die Nukleinsäuregehalte verschiedener Gewebe genauestens zu studieren. Daher erhielt ich von Herrn Professor Dr. Dr. Johs. Brüggemann den Auftrag zur vorliegenden Arbeit.

B. LITERATUR

Die in dieser Arbeit behandelten Stoffe sollen bezüglich ihrer Wachstumswirkung getrennt nacheinander referiert werden.

1. Aureomycin

Das Aureomycin wurde 1948 zusammen mit dem Chloromycetin von Duggar und seinen Mitarbeitern entdeckt. Es wird vom *Streptomyces aureofaciens* gebildet und ist chemisch das Chlortetracyclin. Es hat folgende Strukturformel:



und damit die Bruttoformel $C_{22}H_{23}N_2O_8Cl$.

Nachdem Jukes (1) und seine Mitarbeiter zu diesem Zeitpunkt bereits für Penicillin und Streptomycin Wachstumswirkungen nachgewiesen hatten, wurde auch das Aureomycin bald dahingehend geprüft. Aus der Vielzahl der Versuche seien einige herausgegriffen.

Im Jahre 1950 stellten Whitehill, Olson und Hutchings (2) fest, daß durch Zusatz von 25 - 200 mg Aureomycinhydrochlorid je Kilo Futter bei Kühen ein Wachstumseffekt erzielt werden konnte. Diese Steigerung war bei intravenöser Applikation nicht zu erreichen, weshalb die Verfasser annahmen, der Erfolg erkläre sich durch eine Aureomycinwirkung über die Darmflora.

Ebenfalls 1950 erschien eine Arbeit über die Wachstumswirkung von Aureomycin bei Schweinen. Verfasser waren Jukes, Stokstad, Taylor, Cunha,

Edwards und Meadows (3). Mit einem Futter, das zu 57 % aus gelbem Mais, zu 41,5 % aus Erdnußmehl bestand und welches außerdem Salze und Vitamine nach Cunha (64) sowie zusätzlich Eisen, Mangan, Jod, Kupfer und Kobalt enthielt, konnte kein optimales Wachstum erzielt werden. Aureomycin bewirkte hier eine wesentliche Gewichtszunahme. In dieser Arbeit sollte gezeigt werden, daß das Aureomycin in der Lage ist, eine Nahrung, in der tierisches Eiweiß fehlt, aufzuwerten.

Atleinson und Couch (4) bewiesen 1951 eine Wachstumssteigerung durch Aureomycin bei Hühnern. Sie führten dies auf eine Beeinflussung der Darmflora zurück.

Rusoff, Davis und Alfort (5) erhielten bei Jersey- und Holsteinkälbern durch Aureomycinbeifütterung ein gegenüber Kontrolltieren um 20 % gesteigertes Wachstum.

Carpenter (6) erbrachte den Beweis eines erhöhten Wachstums durch Aureomycin beim Schwein.

Cunha, Meadows, Edwards, Sewell, Pearson und Glasscock (7) zeigten, daß die Wachstumsförderung durch Aureomycin, Streptomycin und Penicillin beim Huhn gleiche positive Werte erreichte. Bei Schweinen, denen entweder 30 γ Vitamin B₁₂, 100 mg Aureomycin, 200 mg Streptomycin oder 10 - 30 mg Penicillin pro Kilo Futter beigegeben wurden, ergab das Aureomycin einen viel besseren Effekt als die beiden anderen Antibiotika.

1952 stellten Amrich, Lewis und Morgan (8) fest, daß bei jungen Hunden mit einem Anfangsgewicht von 1,5 kg, die eine Vitamin B₁₂- und caseinfreie Diät erhielten, mit Aureomycin eine Vermehrung des Wachstums zu erreichen war. Dem Mehrgewicht sollte hier ein erhöhter Fettgehalt entsprochen haben.

Mirone (9) wies 1953 nach, daß bei vom Muttertier abgesetzten Mäusen mit synthetischer Nahrung (23 % Casein) durch Zusatz von 100 mg Aureomycin je Kilo Diät im Vergleich mit Kontrollen ein erhöhtes Wachstum zu erreichen ist.

Piccioni (10) zeigte im selben Jahre Wachstumssteigerung durch Aureomy-

cin bei Ratten auf. Diese betrug nach 15 Tagen 18 - 24 %. Im Verlauf des Versuches aber nahm diese Differenz ab, sodaß dieser Autor zu dem Schluß kam, die Steigerung des Wachstums sei in der Phase des stärksten Wachstums am größten und werde um so geringer, je älter die Tiere würden.

Calet, Rerat und Jacquot (11) erreichten durch Zulagen von 10 mg% Aureomycin ebenfalls eine erhebliche Wachstumssteigerung bei Ratten.

Dickinson und Scott (12) steigerten mit dreiwöchigen Gaben von 30 mg Aureomycinhydrochlorid pro Kilo Nahrung Futteaufnahme - und - ausnutzung sowie das Wachstum von Katzen. Außerdem stellten sie heraus, daß die Tiere weniger an Infektionen litten und im allgemeinen einen gesünderen Eindruck machten.

Im gleichen Jahre (1954) wurde eine Arbeit von Kline, Kastelie, Ashton, Homeyer, Quinn und Catron (13) veröffentlicht, die die Wirkung von Vitamin B₁₂ und Antibiotika auf das Wachstum von jungen Schweinen zum Thema hatte. Bei Zufütterung beider untersuchter Substanzen ergab sich ein wesentlicher Gewichtsvorsprung gegenüber den Kontrolltieren. Eine beim Antibiotikumversuch durchgeführte Bakterienzählung im Kot ergab eine erhöhte Mikrobenzahl.

Calet und Jacquot (14) sprachen anhand erzielter Gewichtszunahmen bei Ratten durch Aureomycin einen interessanten Gedanken aus: Die Gewichtszunahme beträfe in erster Linie den Fettgehalt der Tiere (11g gegenüber 6 g der Kontrollen). Der Eiweißgehalt dagegen würde unter dem der Kontrolltiere liegen (9,8 g - 11 g). Da Verfettung als ein Alterszeichen gilt, glaubten die Verfasser, daß durch Aureomycin das Altern beschleunigt würde.

Auch Ozawa (15) fand 1956 bei einem Versuch mit noch säugenden Hunden eine Beeinflussung des Fettstoffwechsels. Durch Zufuhr von 20 mg Aureomycin pro Tier und Tag über 12 Tage hinweg stieg die Fettresorption aus dem Darm von 83,4 % auf 89,8 %.

Anläßlich eines Antibiotika-Symposiums 1954 in München befaßte sich Brüggemann (16) mit der Frage des zuweilen beobachteten erhöhten Fettansatzes bei mit Antibiotika gefütterten Tieren. Er führte diesen darauf zurück,

daß man in solchen Fällen Versuchs- und Kontrolltiere zur gleichen Zeit geschlachtet hätte. Die ersteren wären dabei schwerer gewesen, was sich naturgemäß auch in einem stärkeren Ansatz von Fettgewebe auswirkte.

Interessant ist auch der Versuch von Hewes (17). Er überprüfte die Nachkommenschaft von mit 0,55 mg Aureomycin pro Tag behandelten Meerschweinchen und fand ein wenn auch nur unbedeutend größeres Durchschnittsgewicht als bei Nachkommen von normal gefütterten Tieren.

Die wachstumssteigernde Wirkung des Aureomycin konnte durch die angeführten Versuche als gesichert betrachtet werden. Daher trat die Frage nach dem biochemischen Wirkungsmechanismus immer mehr in den Mittelpunkt des Interesses. Die erste Ansicht, welche lange Zeit beherrschend war, sprach von einer Wirkung über die Darmbakterien und zwar:

- a) Stimulierung von Bakterien, die wachstumsanregende Stoffe produzieren.
- b) Unterdrückung von Mikroorganismen, die von den dem Tier zugeführten Nahrungsmitteln zehren oder Toxine abgeben.

Um eine solche These zu stützen, mußte man Bakterienzählungen im Kot, im Magen oder Panseninhalt durchführen. Da die normalerweise zu beobachtenden Schwankungen der Bakterienzahlen sehr groß sind, erklären sich zwangsläufig die zum Teil sehr unterschiedlichen Ergebnisse.

1950 stellten Colby, Ran und Dunn (18) fest, daß bei Mastlämmern, an die Aureomycin verfüttert wurde, die Menge der Bakterien etwa das 2 - 4fache der Kontrolltiere betrug. Die Verfasser schlossen daraus, es würden nur gewisse schädliche Arten gehemmt und dadurch bessere Bedingungen für das Gedeihen nützlicher Bakterienstämme geschaffen.

Quinn, Stry, Catron, Jensen und Whalen (19) fanden 1953 bei einem Versuch mit Schweinen, denen 20 mg Aureomycin je Kilo Futter gegeben wurde, im Vergleich mit Kontrollen eine erhöhte Gesamtkeimzahl im Kot. Besonders die coliformen und andere gramnegative, nicht sporenbildende Arten waren vermehrt. Dieser Effekt wurde bei Stallhaltung, nicht jedoch bei Käfighaltung unter Ausschluß der Koprophagie erzielt.

Elam, Jacobs, Tidwell, Gee und Couch (20) stellten im selben

Jahr bei Hühnern fest, daß Wachstumswirkung und Abnahme der Anaerobierzahl im Kot parallel laufen.

Ozawa (15) prüfte 1955 bei drei von neun Rindern, die er einem positiv verlaufenen Wachstumsversuch mit 0,5 - 3 g Aureofacgaben (in 1 g 26,8 mg Aureomycin + 4,2 γ Vitamin B₁₂) unterzogen hatte, den pH-Wert im Kot und die Coli-Zahl. Er fand eine Abnahme letzterer und eine Verschiebung des Kot-pH zum Säuren. Der Verfasser nahm an, daß diese Umstellung für die Wachstumswirkung verantwortlich sein könnte.

Ebenfalls vermuteten eine Einwirkung auf Bakterien des Darmtraktes Whitehill, Obson und Hutchings (2) bei Kücken und Atleinson und Couch (4) bei Hühnern.

Kline, Kastalie, Ashton, Homeyer, Quinn und Catron (13) fanden bei jungen Schweinen eine erhöhte Mikrobenzahl im Kot, jedoch keine wesentliche Beeinflussung der Bakterien. 1954 bereicherte Jukes (1) die Diskussion um die Wirkungsweise des Aureomycins durch die Einführung des Begriffes "disease level".

Durch die Einführung dieses Begriffes soll dem Umstand Rechnung getragen werden, daß jedes Individuum durch seine Umwelt bakteriellen Einflüssen ausgesetzt ist, die je nach Art des hygienischen Milieus einem mehr oder minder pathogenen Charakter tragen können, ohne jedoch zu klinischen Erscheinungen im Organismus zu führen. Insbesondere werden solche Effekte bei der Stallhaltung der landwirtschaftlichen Nutztiere zu beobachten sein, da bei den hier vorliegenden Lebensbedingungen mit einer Vielzahl von Mikroben zu rechnen ist. Die unter diesen vorhandene Menge an Mikroorganismen, die subklinische Infektionen auslösen können, wird den Grad des "disease level" bestimmen. Je mehr von ihnen vorhanden sind, um so höher wird der "disease level" liegen.

Es konnte nun durch Jukes (1) festgestellt werden, daß die Wachstumswirksamkeit der Antibiotika vor allem dann zu beobachten war, wenn bei den entsprechend gefütterten Tieren ein hoher "disease level" vorlag.

Die Wirkung der Antibiotika wäre demnach durch die Hemmung von Darmbakterien, die subklinische Infektionen hervorrufen, erklärt.

Eine weitere Ansicht über die Aureomycinwirkung, die sich jedoch zum Teil auch auf eine Beeinflussung der Darmflora stützt, ist die einer gewissen Spar-

wirkung auf Vitamine.

So wurde von Stokstad und Jukes (21) 1951 in Versuchen mit Kücken manchmal eine Sparwirkung auf den Vitamin B₁₂ Bedarf gefunden. In anderen Fällen aber blieb der Effekt aus. Die Sterblichkeit von Vitamin B₁₂-arm ernährten Kücken wurde durch Aureomycin wesentlich vermindert.

Biely und March (22) stellten im gleichen Jahre fest, daß bei Kücken mit vitaminreicher Grundkost durch Aureomycin keine Wachstumssteigerung zu erreichen ist. Wurde jedoch aus der Nahrung ein Vitamin fortgelassen (Folinsäure, Riboflavin oder Nicotinsäure), so konnte Wachstumsförderung beobachtet werden.

Ähnliches fand Sauberlich (23) 1952 bei Ratten. Bei vollvitaminierter Grundkost konnte er mit Aureomycin das Wachstum nicht steigern. Bei Thiamin - Pyridoxin - Pantothensäure - und weniger stark bei Riboflavinemangel konnte er durch Penicillin (0,01 % Zusatz zur Kost) und bei Pantothensäure- und Thiaminmangel durch Aureomycin (0,01 % Zusatz zur Kost) einen Wachstumseffekt erzielen.

Diamant, Halevy und Guggenheim (24) veröffentlichten 1955 einen Versuch, in dem Aureomycin eine leichte Sparwirkung bezüglich Niacin, Folsäure und Biotin zu haben schien. Die Verfasser schlossen auch aus früheren Versuchen, daß die Antibiotika die Vitaminversorgung der Tiere durch Einwirkung auf die Darmflora und einer dadurch vermehrten Vitaminsynthese verbesserten.

Dhopeswarkar, Trivedi, Kulkarni, Satoskar und Lewis (25) untersuchten den Vitamin B₁₂-Blutspiegel von zehn gesunden Medizinstudenten, von denen die Hälfte Vegetarier und die anderen Nichtvegetarier waren. Der Blutspiegel lag bei ersteren niedriger. Nach zwei Monate dauernden täglichen Injektionen von 50 mg Aureomycin stiegen die Vitamin B₁₂-Werte im Blut der Vegetarier deutlich an.

Berry und Schuck (26) zeigten 1954 eine Abhängigkeit der Wachstumswirkung des Aureomycins von der Art und Menge des verfütterten Proteins. Die Überprüfung des N-Stoffwechsels ergab, daß die Aureomycinbeigabe die Verdaulichkeit von Baumwollsaamen und Sojaprotein erhöhte.

Diesen Erklärungen wurden beim Europäischen Symposium über Antibiotika und neue Wachstumsfaktoren in der Tierernährung in Rom 1955 einige neue Ideen und Versuche hinzugefügt.

So bewiesen die Franzosen Francois und Michel (27), daß die Bakterien des Schweinedarms, die das Eiweiß durch Desaminierung zu den Grundbestandteilen abbauen, durch Antibiotika zu gewissen Prozentsätzen gehemmt würden. Dies war sowohl bei tierischer Darmflora als auch bei Züchtung unter Laboratoriumsbedingungen der Fall. Die Verfasser vermuteten einen Zusammenhang zwischen dieser Hemmung und der Wachstumsförderung. Man könnte mit diesen Versuchsergebnissen die antibiotische Wirkung hinsichtlich der Förderung des Eiweißstoffwechsels folgendermaßen erklären: "Die Geschwindigkeit und die Art der Verwertung des Eiweißes im Darm und damit die Eiweißaufnahme des Körpers selbst auf dem Umweg über die dafür spezifischen Darmbakterien werden durch die Antibiotika mit dem Resultat einer erhöhten Wachstumsrate beeinflusst."

Eine neue Wendung brachte Brüggemann (62) mit dem Hinweis, daß einige in nutritiven Dosen gegebene Antibiotika im Darm resorbiert werden und somit in die Blutbahn gelangen können. Dadurch rückte die Annahme nahe, daß die Antibiotika in den Stoffwechsel der Zelle selbst eingreifen.

Luckey (28) arbeitete schon 1952 an dem Beweis eines intermediären Einflusses. Er ernährte keimfreie Kücken mit einer im Autoklaven erhitzten Diät, der er bei einem Teil Antibiotika zusetzte. Die ersten Versuche mit 23 mg Chloramphenicol oder 50 mg Aureomycin je Kilo Diät verliefen negativ. Die verständlicherweise kleine Zahl der Versuchstiere (2 - 6) und gleichfalls negative Ergebnisse mit Truthähnen, denen 50 mg Penicillin pro Kilo Diät zugegeben wurde, brachten den Verfasser zu der Äußerung, daß keine Stimulierung des Wachstums keimfreier Kücken durch Antibiotika gegeben wäre. Später jedoch fand Luckey (28) mit niedrigeren Dosen eine solche Steigerung. Er gab dabei an Kücken 25 mg Aureomycin oder 11 mg Penicillin je Kilo Diät, wobei die Gewichte um 3 - 7 % höher lagen als bei Kontrollen, und an Truthähne 46 mg Penicillin je Kilo Futter, wobei er ein gesteigertes Wachstum um 1,7, beziehungsweise 13 % erreichte. Eine definitive Erklärung über das Vorhandensein eines Wachstumseffektes war jedoch wegen der geringen Zahl der Tiere nicht möglich. Insgesamt waren bei Luckeys Versuchen 11 von 19 Antibiotikatierten schwerer als die Kontrollen.

Zu signifikanteren Ergebnissen kamen in neueren Untersuchungen Forbes und Mitarbeiter (70). Die Autoren konnten zeigen, daß eine Wachstumsstimulation durch Penicillin bei keimfrei gehaltenen Tieren nur dann nachzuweisen ist, wenn diese mit Wachstumsdepressionen auslösenden Mikroorganismen, wie z.B. *Clostridium welchii*, vorher infiziert wurden. Hierbei ist es gleichgültig, ob die Infektion direkt per os oder durch eine Verseuchung des Stalles über den Kot normal gehaltener Tiere zustande kommt (71).

Nach eigenen Untersuchungen des Hauses, die von Schöle (29) durchgeführt wurden, zeigte sich, daß die Antibiotika und auch andere wachstumswirksame Substanzen einheitlich eine antithyreoidale Wirkung entfalten, die aber nicht an der Schilddrüse selbst sich aufzeigt. Anscheinend wird durch Blockierung des Thyroxinrezeptorsystems eine volle Entfaltung der Thyroxinwirkung unmöglich.

Dies stimmt überein mit dem von Tellkä und Kuusisto (30) 1954 veröffentlichten Versuch. Die Verfasser überprüften nach vierwöchigen Antibiotica Gaben das mittlere Gewicht der Schilddrüse und das Verhältnis von Epithel, Stroma und Kolloid. Sie fanden dabei gegenüber Kontrolltieren keinerlei Veränderung.

Brüggemann, Karg und Schöle (72) führten nun weiter aus, daß alle für Wachstumswirkungen in Frage kommenden Antibiotica mit SH-Gruppen der entsprechenden Fermente reagieren würden. In vivo lief die SH-Reaktion der Antibiotica, wie sich dies an Hand von Wachstumsversuchen an Ratte und Schwein gezeigt hätte, mit hypertrophischen Veränderungen der Nebennierenrinde parallel. Wahrscheinlich werde durch Blockierung des Rezeptorsystems der Nebennierenrindenhormone der Organismus zu vermehrter Produktion dieser Hormone angeregt. Das Antibiotikum verschiebe demnach im Wachstumsversuch das Redoxpotential der Zelle nach der positiven Seite, und die Nebennierenrinde stelle langsam durch Hypertrophieren die physiologischen Verhältnisse wieder her.

In einer späteren Arbeit konnten diese Annahmen durch in-vitro-Versuche gestützt werden, in denen gezeigt wurde, daß bei Gegenwart eines Antibiotiums die SH-Gruppenoxydation durch molekularen Sauerstoff katalytisch beschleunigt wird (73).

Eine ähnliche antagonistische Beziehung der Antibiotica konnte auch zur Schilddrüsenfunktion nachgewiesen werden (74).

Ozawa (15) fand 1956 eine Beeinflussung der Nebennierenrinde durch Aureomycin. Bei mangelernährten Meerschweinchen, die Störungen der Funktion dieser innersekretorischen Drüse zeigten, wurde nach Aureomycingabe ein Anstieg der unter der Norm liegenden Tätigkeit derselben beobachtet.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Wachstumswirksamkeit des Aureomycin über die Beeinflussung der Darmflora durchaus möglich ist, jedoch ebenfalls mit einer intermediären Stoffwechselwirkung gerechnet werden muß.

Es herrscht noch keine Klarheit, in welchem Fermentsystem sich dieser Einfluß geltend macht. Bei einem erhöhten Wachstum tritt die Synthese von Eiweiß gegenüber einem Abbau und Umbau desselben in den Vordergrund. In allen Geweben, die eine starke Wachstumsintensität und damit eine hohe Zellteilungsrate aufweisen, finden sich Nukleoproteide als wesentlichste Bestandteile der Zellkerne in hoher Konzentration. Die Nukleinsäuren sind hierin die aktiven Gruppen, die für eine kontrollierte Eiweißsynthese Voraussetzung sind.

Es werden also bei einem erhöhten Wachstum auch die Konzentrationen der Nukleinsäuren erhöht sein. Wachstumsvorgänge sind auf das engste mit dem Nukleinsäurestoffwechsel verknüpft.

Aus diesem Grunde sollte die Einwirkung von intravenösen Aureomycingaben auf den Nukleinsäurestoffwechsel der Ratte in verschiedenen Organen untersucht werden.

2. Vitamin B₁₂

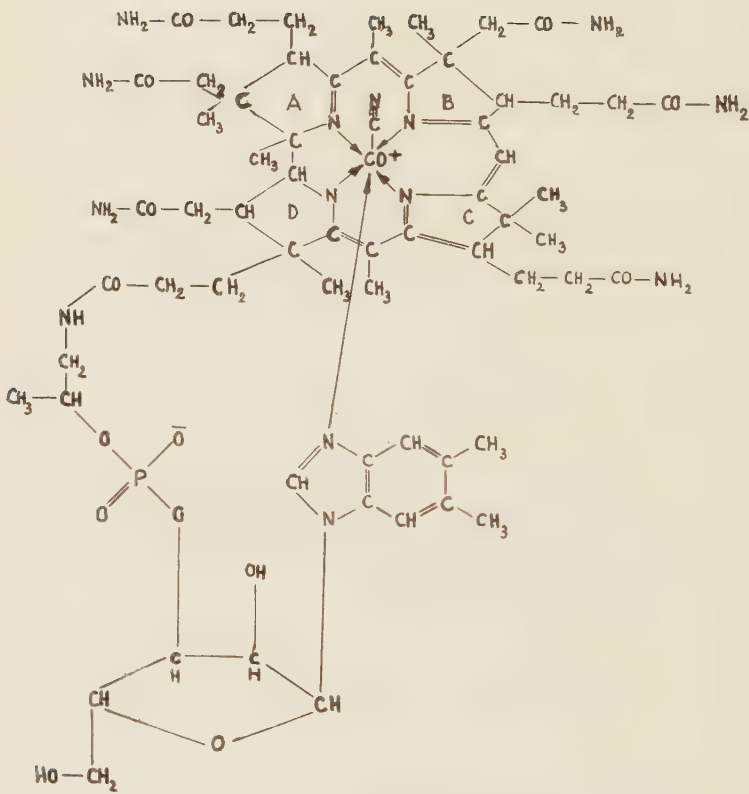
Das Vitamin B₁₂ ist in historischer Sicht von besonderem Interesse. Seit Minot und Murphy 1926 veröffentlichten, daß der Verlauf der perniziösen Anämie durch Verabreichung von roher Leber gelindert werden könnte, suchten Wissenschaftler nach dem hier wirksamen Prinzip. Jedoch erst 1948 wurde fast gleichzeitig von Riches, von den Laboratorien der Firma Merck und

von Smith der reine Wirkstoff erkannt und isoliert. Riches gab der Substanz den Namen Vitamin B₁₂. Zur gleichen Zeit wurde ein in seiner Zusammensetzung unbekannter Wachstumswirkstoff, der "Animal Protein Factor" untersucht. Spätere Studien ergaben, daß der Hauptbestandteil desselben das Vitamin B₁₂ ist.

Chemisch ist das Vitamin B₁₂ von ungewöhnlich komplexer Natur. Es erscheint dem Häm des Hämoglobins und dem Chlorophyll nahe verwandt. Beim Vitamin B₁₂ liegen jedoch statt der Pyrollkerne der Porphyrine 3 Pyrollinringe und 1 Pyrrolidinring vor, die untereinander nur an drei Stellen durch C-Brücken verknüpft sind, während der erste und vierte Ring unmittelbar über zum Ring gehörende C-Atome verbunden sind. Inmitten des großen Ringsystems befindet sich das Kobaltatom ähnlich an das Stickstoffatom der kleineren Ringe gebunden wie das Eisen im Hämoglobin und das Magnesium im Chlorophyll.

Die Struktur wurde erst 1956 von Hodgkin (63) aufgeklärt. Die Summenformel lautet: C₆₃ H₉₀ O₁₄ N₁₄ P Co.

Es ist also eine Komplexverbindung, die Kobalt und Phosphor im Verhältnis 1 : 1 enthält und folgende Strukturformel hat:



Strukturformel des Vitamin B₁₂

Da das Vitamin B₁₂ als Hauptbestandteil des APF erkannt wurde, wurde es auch bald in Fütterungsversuchen eingesetzt.

So verfütterten Lücke, Mc. Millen, Thorp und Bouicce (31) bereits 1949 an Ferkel neben reinem pflanzlichen Eiweiß 0,5 % rohes Vitamin B₁₂-Konzentrat. Gegenüber Kontrollen nahmen die so ernährten Tiere wesentlich mehr zu. Pro Kilo Gewichtszunahme wurden von den Kontrolltieren 2,94 Kilo, von den Versuchstieren nur 2,65 Kilo Futter verzehrt. Die Verfasser wiesen jedoch darauf hin, daß wegen der Begleitstoffe die Wachstumswirkung nicht sicher dem Vitamin B₁₂ allein zugeschrieben werden könne.

Wetzel, Fergo, Smith und Helikson (32) behandelten im gleichen Jahre Wachstumshemmungen bei Kindern mit 10 γ Vitamin B₁₂ täglich über einige Wochen hin. Bei sonst gleichen Bedingungen wie vorher besserte sich der Zustand bei 5 Kindern rasch. Es bestand also ein unerkannter Vitamin B₁₂-Mangel.

Es ist bekannt, daß der Bedarf an einer Reihe von lebenswichtigen Nährstoffen erhöht ist, wenn Hyperthyreodismus besteht. Mit Thyroxin behandelte Tiere bleiben demnach zurück, wenn man sie bei einem Futter hält, das unter normalen Verhältnissen gerade optimales Wachstum erlauben würde.

Nichol, Dietrich, Cravens und Elvehjen (33) konnten nur bei Kücken, die mit Thyroxin behandelt waren, das Wachstum durch Gaben von Leberextrakt, eingedicktem Fleischextrakt oder Vitamin B₁₂ normalisieren. Von letzterem verabreichten sie entweder 1,5 γ pro 100 Gramm Futter per os oder 0,1 γ täglich pro Tier intramuskulär.

1949 stellte Emerson (34) dasselbe fest. Er steigerte durch Gaben von 0,06 - 0,5 γ Vitamin B₁₂ per os oder subcutan, das Körpergewicht von Ratten, die zu ihrer Grundkost aus Sojabohnenmehl noch 0,25 % Schilddrüsenpulver bekommen hatten. Die Steigerung entsprach der jeweiligen Dosis. Vitamin B₁₂ wirkt also der wachstumsverzögernden Wirkung der Schilddrüse entgegen. Der Verfasser stellte fest, daß orale und parenterale Gaben gleich wirksam seien.

Lücke, Mc. Millen und Thorp (35) veröffentlichten 1950 einen Versuch mit Schweinen, denen 12,5 γ kristallines Vitamin B₁₂ pro Kilo Futter gegeben wurde. Die Gewichtszunahme war um 10 % höher als bei Kontrollen.

(15 ♂ Vitamin B₁₂ + 0,05 % Streptomycin ergab 40 % höhere Gewichte.)

Miller, Gobble und Kuhns (36) wiesen 1951 eine wesentliche Wachstumsförderung abgesetzter Ferkel während einer 17-wöchigen Aufzuchtperiode mit Mais, Sojamehl, Methionin, Mineralstoffen und Vitaminen durch Vitamin B₁₂-Gaben, durch Streptomycin - Vitamin B₁₂ -Kombinationen oder 0,5 % Sulfathalidin nach. Das vermehrte Wachstum hielt die ganze Versuchsdauer an.

Carpenter (6) zeigte im selben Jahr eine durch Vitamin B₁₂ bedingte Gewichtszunahme bei Schweinen.

Amrich, Lewis und Morgan (8) stellten 1952 Wachstumssteigerung und bessere Futterausnutzung bei jungen Hunden fest, die zu ihrer von Vitamin B₁₂ und von Casein freien, volles Wachstum ermöglichenden Diät Zulagen von 5 ♂ Vitamin B₁₂ pro 100 Gramm Futter bekamen. Die Verfasser diskutierten dabei eine Beteiligung der Darmflora.

Keine fördernde Wirkung durch Vitamin B₁₂-Gaben fanden 1954 Mirone und Wade (37) bei einer durch Vitamine und Salze ergänzten Diät aus Casein, Zucker und Schmalz, mit der vier Mäusestämme gefüttert wurden.

Ebenfalls wirkungslos waren alleinige Vitamin B₁₂-Zulagen in einem von Calet, Rerat und Jacquot (11) mit Ratten ausgeführten Versuch.

Dagegen fand Sauberlich (38) ebenfalls 1954 bei Ratten folgendes: Läßt man Vitamin B₁₂, das im Grundfutter mit 0,06 mg pro Kilo vorhanden ist, fort, so nehmen die mit 42 % Erdnußmehl enthaltender Kost gefütterten Tiere in vier Wochen statt 160 ± 5 Gramm nur noch 121 ± 8 Gramm zu. Bei Sesamöl verhalten sich die Werte ähnlich.

Daneben wurden in der folgenden Zeit mehr und mehr Versuche mit Mikroorganismen angestellt.

So fanden 1956 Johnson, Bentley und Moxon (39) bei der Züchtung von Rumenmikroorganismen auf Co⁶⁰-enthaltenden Nährböden nach Extraktion, Adsorption an Kohle und Papierelektrophorese sieben Substanzen mit Wachstumswirkung für Escherichia coli und Lactobazillus Leichmannii, darunter auch Vitamin B₁₂ (und B₁₂^b). Die übrigen wurden nicht identifiziert. Ähnliche Ergebnisse wurden bei Injektion von Co⁶⁰ in das Schafrumen erhal-

ten.

Die prozentuale Verteilung der Gesamtaktivität auf die einzelnen Faktoren zeigte, daß der Anteil von Vitamin B₁₂ 50 - 75 % betrug.

Truscott und Hoogland (40) trennten im gleichen Jahre Wachstumsfaktoren für *Lactobazillus Leichmannii* auf und fanden 75 % Cobalamine. Vitamin B₁₂-bindende Substanzen für das Wachstum von *Lactobazillus Leichmannii* erhielten Stapert, Goff und Stubberfield (41).

Die Erkenntnis, daß das Vitamin B₁₂ der wesentlichste Bestandteil des "Animal Protein Factor" ist und die zahlreichen positiven Fütterungsversuche ließen an der Wachstumswirksamkeit der Substanz bald keinen Zweifel mehr. So wandte man sich mehr und mehr dem biochemischen Mechanismus ihrer Wirkung zu. Nachdem auch hier anfänglich eine Wirkung über die Darmflora diskutiert wurde, wie das Amrich, Lewis und Morgan (8) taten, unterzog man sehr bald die These einer Beeinflussung des intermediären Stoffwechsels, und hier des Nukleinsäurestoffwechsels, näheren Untersuchungen.

Bereits 1950 ließen Rege und Sreenivasan (42) *Lactobazillus casei* in Medien mit variierten Konzentrationen von Folsäure und Vitamin B₁₂ 24 Stunden wachsen, um den Gehalt der Zellen an Desoxyribonukleinsäure (DNS) und Ribonukleinsäure (RNS) quantitativ zu bestimmen. Bei Erhöhung des Gehaltes an Vitamin B₁₂ von 5 auf 200 γ % fanden sie eine Steigerung der Desoxyribonukleinsäure von 1,25 auf 2,93 %. Dabei wurde die Bakterienmasse nur von 0,21 auf 0,24 Gramm je Liter Medium erhöht. Der Prozentsatz der Ribonukleinsäure blieb beim Anstieg der Desoxyribonukleinsäure gleich.

Ebenfalls mit Mikroorganismen arbeitete Soldo (43), der 1955 *Euclena gracilis* auf Nährmedien mit Vitamin B₁₂-Gehalten zwischen dem optimalen und dem, der gerade noch ausreichendes Wachstum zuläßt, züchtete. Der Nukleinsäuregehalt der Zellen sank mit abnehmendem Vitamin B₁₂-Gehalt der Nährböden. Hier fand der Verfasser jedoch ein unverändertes Verhältnis von Desoxyribonukleinsäure zu Ribonukleinsäure.

Noch eine dritte Arbeit mit Mikroorganismen soll erwähnt werden. Sie stammt von Downing und Schweigert (44) und erschien 1956. Die

Verfasser züchteten *Lactobazillus Leichmannii* auf Caseinhydrolysat-Nährböden unter Zusatz von 14 - C - markiertem Thymidin 72 Stunden lang und setzten in einem Parallelversuch Vitamin B₁₂ zu. Aus dem Ergebnis zogen sie den Schluß, daß das Vitamin B₁₂ direkt in die Synthese von Desoxyribose oder eine Vorstufe derselben eingreife.

In einem Referat stellten Lascelles und Cress (45) beim Symposium in London 1955 heraus, daß das Vitamin B₁₂ von Mikroorganismen zur Synthese von Methionin und Nukleinsäurekomponenten, besonders Desoxyribosiden benötigt würde.

Von Säugetieren wurden ausschließlich Ratten für diesbezügliche Versuche herangezogen.

Schon 1951 prüften Sahasrabudhe und Rao (46) den Einfluß von Vitamin B₁₂ auf die Regeneration von Eiweiß und Nukleinsäuren in der Leber. Sie ernährten erwachsene Ratten vier Wochen lang Vitamin B₁₂-frei unter Zusatz von Sulphasuxidine (= Succinylsulfathiazol) und fütterten nach zwei eingeschalteten Hungertagen mit und ohne Vitamin B₁₂ weiter. Der Protein Stickstoff-Gehalt der Leber nahm gegenüber dem der nach der Hungerperiode getöteten Tiere in beiden Gruppen um circa 25 % zu. Der Desoxyribonukleinsäuregehalt vermehrte sich ohne Vitamin B₁₂ nicht, mit solchem um etwa 30 %. Der Ribonukleinsäuregehalt veränderte sich ohne Vitamin B₁₂ nur unwesentlich und stieg mit um ungefähr 40 %.

Rose und Schweigert (47) fanden 1952 bei vier Wochen auf Vitamin B₁₂-Mangel gesetzten Ratten eine Abnahme der Desoxyribonukleinsäure in der Leber um 20 %, der Ribonukleinsäure um etwa 15 % bezogen auf Frischgewicht, Trockengewicht oder Stickstoffgehalt. Entsprechend nahm auch die Zellzahl ab, sodaß die jeweilige Nukleinsäuremenge bezogen auf Zelle oder Zellkern gleich blieb. In Milz und Niere ergaben sich diese Veränderungen nicht. Per os gegebenes 15 - N -Glyzin wurde nur halb so stark wie normal in Ribonukleinsäure-Purine eingebaut und in Desoxyribonukleinsäure-Purinen fand sich gar keines. Die Verfasser kamen zu dem Schluß, daß im Vitamin B₁₂-Mangel die verminderte Nukleinsäuresynthese die Zellteilungsrate begrenze und so die Abnahme der Nukleinsäuren und des Zellgehaltes in der Leber zustande käme.

Ebenfalls mit Rattenlebern arbeiteten Rasch, Swift und Schweigert

(48) 1955. Sie riefen mit 0,06 % Jodcasein einen Vitamin B₁₂-Mangel hervor und bestimmten bei 50 g pro Kilo Futter und ohne solches Desoxyribonukleinsäure, Ribonukleinsäure und Zellkernvolumen in der Leber. Desoxyribonukleinsäure war unverändert, Ribonukleinsäure um 20 % erniedrigt. Eine Korrektor auf Grund des stark erhöhten Zellvolumens ergab jedoch, daß Ribonukleinsäure um 23 % pro Zelle erhöht war.

Eine andere Zellart untersuchte Gomitato (49), der 1954 die Veränderung des Stoffwechsels motorischer Vorderhornzellen des Rückenmarks durch biophysikalische Methoden überprüfte. Er stellte fest, daß intensive Muskeltätigkeit bei dem Zelltyp mit niedrigem Proteingehalt mit und ohne Zufuhr von Vitamin B₁₂ zu starker Verminderung von Ribonukleinsäure-Proteinen im Zellkern und Zytoplasma führte. Durch Vitamin B₁₂ wurde aber die Regeneration der Ribonukleinsäure-Proteine so beschleunigt, daß innerhalb von 24 Stunden Werte erreicht wurden, die jene von Kontrolltieren in einigen Fällen sogar überschritten.

Venkataraman und Barnum (50) überprüften 1957 den Einbau von radioaktivem Phosphor (32 -P) in die Nukleinsäuren von Leber, Milz und Darm von Ratten, die unter Vitamin B₁₂-Mangel gehalten wurden. Diesen riefen sie dadurch hervor, daß bereits die Mütter der Versuchstiere 10 Tage vor dem Wurf und während des Säugens kein Vitamin B₁₂ erhielten. Der Einbau von 32-P in Ribonukleinsäure und Desoxyribonukleinsäure der Leber war unverändert. Bei Milz und Darm war er für Ribonukleinsäure um 30 - 50 % vermindert. Die Verfasser führten dies auf das im Vitaminmangel erniedrigte Wachstum und die geringere Futteraufnahme - und ausnutzung zurück. Der 32-P-Einbau in die Desoxyribonukleinsäure von Milz und Darm war um 40 % zurückgegangen. Bei der Erniedrigung der Einbauraten in die Desoxyribonukleinsäure des Darmes sprachen die Verfasser wie oben von einer indirekten Wirkung. Da die Desoxyribonukleinsäure der Milz aber durch Gaben von Vitamin B₁₂ in ihrer relativen Aktivität so stark vermehrt wurde, nannten sie hier einen direkten Einfluß von Vitamin B₁₂ auf die Biosynthese von Desoxyribonukleinsäure an.

Beim Londoner Symposium über die Biochemie des Vitamins B₁₂ referierte Arnstein (51) über die Funktion dieses Vitamins im Stoffwechsel der Tiere. Er stellte dabei fest, daß nur wenig Einzelheiten über die grundlegenden Wirkungsmechanismen bekannt wären. Das Vitamin B₁₂ erleichtere die Biosynthese von freien Methylgruppen, bewirke aber wahrscheinlich keine Trans-

methylierung. Diese Biosynthese schlieÙe Übertragung von Formaldehyd und die Reduktion einer Hydroxymethylgruppe ein. Es sei wahrscheinlich, daß das Vitamin B₁₂ an dieser Reduktion beteiligt ist. Der eigentliche Angriffspunkt aber sei noch nicht bekannt.

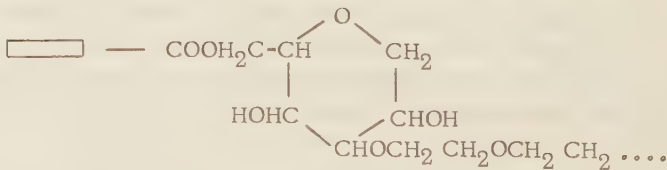
Mehr noch wie für das Aureomycin läßt sich für das Vitamin B₁₂ neben einer Darmflora-Wirkung eine intermediäre bezüglich der Wachstumswirksamkeit erwarten.

Aus diesen Gründen wurde die Beeinflussung des Nukleinsäurestoffwechsels in verschiedenen Organen nach intravenösem Vitamin B₁₂-Stoß untersucht.

3. Oberflächenaktive Substanz "Tween 60"

Oberflächenaktive Stoffe sind dadurch gekennzeichnet, daß sie die Oberflächen- bzw. Grenzflächenspannung ihres Lösungsmittels mehr oder weniger stark herabzusetzen vermögen. Durch dieses Herabsetzen der Grenzspannung verbessern sie zum Beispiel die Resorptionsfähigkeit der Fette. Das konnte man feststellen, als Lebertran besser verwertet wurde, wenn Emulgatoren mit verabreicht wurden. Der Körper selbst produziert ja mit der Galle ebenfalls ein oberflächenaktives Sekret.

Chemisch stellen die Tween-Präparate Kondensate aus Fettsäure - Sorbitan-ester und Polyäthylenoxyd dar (56), wie zum Beispiel das "Polysorbate 80":



Die Wachstumswirksamkeit der oberflächenaktiven Stoffe wurde zum ersten Male beobachtet, als zur Fütterung verwendete Brauereinebenprodukte zufällig Spuren von Reinigungsmitteln enthielten.

Die ersten Berichte über diesbezügliche Versuche stammen von Ely (1951) und Luecke (1952) (52). Die Autoren erreichten mit Kokosfettsäuren kondensiertem Äthylenoxyd bei wachsenden Küken und Schweinen ähnliche Ergebnisse wie durch Beimengung von Aureomycin, Terramycin oder Bacitracin.

Perry und seine Mitarbeiter (53) führten an der Purdue Universität 1953 Versuche bei Mastschweinen durch, wobei die Wirkung des oberflächenaktiven Stoffes Alkyl-benzyl-Sulfonat mit der von Aureomycinhydrochlorid verglichen wurde. Das Grundfutter bestand aus einem vitaminisierten und mineralstoffergänzten Mais-Soja-Luzernegrünmehlgemisch. Der Versuch dauerte 4 Monate; die Schweine wurden bei Erreichen eines Lebendgewichtes von ca. 97 kg geschlachtet. Hier hat sowohl das Antibioticum als auch der Oberflächenaktivstoff eine statistisch gesicherte wachstumssteigernde Wirkung entfaltet.

Eder und Horn (54) unternahmen 1956 einen ähnlichen Versuch mit Ratten. Sie teilten 69 g schwere Tiere in 6 Gruppen, von denen 3 zu einer bestimmten Diät 0,5 % Tween 20 erhielten. Davon bekam eine Gruppe 7 g Futter, eine 9 g und eine beliebig viel. Das Experiment dauerte 34 Tage. Der deutlichste Wachstumseffekt zeigte sich bei den Ratten mit optimaler Futtermenge (9 g). Weniger stark war er bei 7 g täglich und vollkommen fehlend bei sattgefütterten Tieren. In einem zweiten Versuch mit 0,5, 1,0 und 2,0 % Tween zeigte sich ebenfalls besseres Wachstum als bei den Kontrollen und kein toxischer Effekt. (einen solchen fanden Poling, Eagle und Rice (55) 1956 bei Ratten und Hamstern, die mit 5 % Polyäthylen gefüttert wurden in Form von Diarrhoe und okkulten Blutungen in die Faeces).

Die Autoren führten den günstigen Einfluß des Tween 20 auf eine bessere Verteilung des Chymus zurück. Tween 20 schaffe eine größere Oberfläche, eine bessere Emulgierung und steigere so den Wirkungsgrad der Enzyme.

Diese Ansicht wird im allgemeinen vertreten. Auch Ullmann (56) spricht in einem Aufsatz über oberflächenaktive Synthetika von günstigeren Resorptionsverhältnissen und besserer Verträglichkeit. Im gewissen Gegensatz stehen hierzu Untersuchungen des hiesigen Institutes (75), die erkennen ließen, daß ein oberflächenaktiver Stoff vom Typ einer organischen

quaternären Ammoniumverbindung beim Geflügel nur dann Wachstumswirkung zeigt, wenn eine besonders energiereiche Mastration mit 5 % oder 10 % Rindertalg verabreicht wurde. Bei Kälbern dagegen war überhaupt kein vermehrter Wachstumseffekt mit dieser Substanz zu erzielen.

Mit diesen Versuchen scheint erwiesen zu sein, daß eine Wachstumsstimulation durch oberflächenaktive Substanzen wenn überhaupt, dann durch resorptionsfördernde Eigenschaften zustandekommt.

Eine Wirkung jenseits des Magen-Darm-Kanals wird von Menke (76) diskutiert, der nachweisen konnte, daß Dodecylsulfat und besonders Dodecylbenzolsulfonat im Organismus ungespalten inkorporiert werden können.

Wenn der Autor auch keine näheren Anhaltspunkte über den biochemischen Angriffspunkt geben kann, so genügte dieser Hinweis, um im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit eine Hypothese aufzustellen, daß ein Einfluß oberflächenaktiver Substanzen auf den intermediären Fermentstoffwechsel möglich sei. Selbstverständlich wäre die Wachstumswirkung oberflächenaktiver Substanzen über eine verbesserte Resorption der fettlöslichen Nahrungsstoffe hinreichend erklärt. Aus ähnlichen Gründen -- wie vorher für das Chlor-tetracyclin angeführt -- erscheint es jedoch möglich, daß neben der beobachteten Resorptionsverbesserung auch eine Beeinflussung der Nukleinsäuregehalte verschiedener Organe stattfindet. Deshalb wurde auch ein Vertreter oberflächenaktiver Substanzen, nämlich das "Tween 60" in die Versuchsreihen mit einbezogen.

C. PROBLEMSTELLUNG

Faßt man die hier zitierte Literatur zusammen, so läßt sich feststellen, daß die wachstumswirksamen Substanzen Chlortetracyclin, Vitamin B₁₂ und vielleicht auch der oberflächenaktive Stoff "Tween 60" ihre Wirkungen neben Effekten im Magen-Darm-Trakt auch im intermediären Stoffwechsel entfalten könnten. Wachstumsprozesse zeichnen sich unter anderem durch eine vermehrte Eiweißsynthese im Organismus aus. Diese kann nur nach Erhöhung der Nukleinsäurekonzentration in den Geweben erfolgen, da diese Voraussetzung sowohl für das Zellwachstum als auch die Zellvermehrung ist. Es erschien daher sinnvoll, den Einfluß der genannten Substanzen auf die Nukleinsäuregehalte verschiedener Gewebe als Ausdruck einer echten intermediären "Wachstumsleistung" zu untersuchen.

Da es durchaus wahrscheinlich ist, daß die Nukleinsäurekonzentration im Organismus ebenfalls durch verbesserte Resorptionsvorgänge verändert werden können, mußte der Nachweis einer alleinigen intermediären Wirkung der interessierenden Stoffe durch einen "Kurzzeit-Versuch" erbracht werden. Hierbei wurde den Tieren die entsprechende Substanz über eine Dauerinfusion intravenös innerhalb von 2 Stunden appliziert. Mit der sofortigen Tötung der Tiere unmittelbar nach der Behandlung sollte gewährleistet werden, daß eine Beeinflussung der Nukleinsäurekonzentrationen durch eine Wirkung der eingesetzten Stoffe über den Magen-Darm-Kanal mit Sicherheit ausblieb.

D. VERSUCHSANSTELLUNG

1. Prinzip der Methode

Mit den eigenen Versuchen sollte festgestellt werden, in welchem Umfange Aureomycin, Vitamin B₁₂ und Tween 60 die Nukleinsäuregehalte verschiedener Organe beeinflussen. Es wurden Ratten einer zweistündigen Dauerinfusion mit einem der genannten Wirkstoffe unterworfen, wobei Kontrolltiere nur das Lösungsmittel, nämlich physiologische Kochsalzlösung, erhielten. Nach dieser Behandlung wurden die Tiere getötet, ihre Organe aufgearbeitet und die Gehalte an Desoxyribonukleinsäure (DNS) und Ribonukleinsäure (RNS) bestimmt. Die Werte der Versuchstiere wurden denen der Kontrollen gegenübergestellt und für die vorhandenen Differenzen die statistische Sicherheit errechnet.

2. Auswahl der Tiere

Zu den Untersuchungen wurden Ratten der Sprague-Dawley-Zucht im Alter von 7 - 8 Wochen mit einem Gewicht von 50 - 100 Gramm verwendet, wobei jeden Tag 2 Tiere mit etwa gleichem Gewicht ausgesucht wurden. Beim Aureomycinversuch wurden nur Männchen, beim Tweenversuch Männchen und Weibchen und beim Vitamin B₁₂-Versuch nur Weibchen herangezogen. Die Tiere erhielten das Versuchsfutter "V - grün", das folgende Zusammensetzung aufwies:

45	Teile	Weizenschrot	
30	"	Maisschrot	
3	"	Magermilchpulver	
15	"	Sojaschrot	
2	"	Luzernegrünmehl	
2	"	Mineralstoffmischung:	
		30 %	Dicalciumphosphat
		69,5 %	Calciumcarbonat
		0,5 %	Spurenelemente
			(Fe:Cu:Co wie 1:2:0,2)

3. Applikation der Stoffe

Vor der Infusion wurden die Tiere mit einer 8 %igen Urethanlösung narkotisiert. Dabei waren 1,5 - 2,5 ccm dieser Lösung nötig, um -- intraperitoneal injiziert -- die Ratten nach etwa 10 Minuten in tiefen Schlaf zu versetzen. Die Narkose hielt im allgemeinen gut an, sodaß nur selten nachdosiert werden mußte.

(Ob das Urethan den zu untersuchenden Nukleinsäurestoffwechsel beeinflussen kann, wurde an Hand von drei Tierpaaren untersucht. Infolge der geringen Tierzahl kann eine sichere Verneinung nicht gegeben werden, ein signifikanter Unterschied ist jedoch nicht erkennbar. Außerdem wurde ja diese Narkose sowohl für das Versuchs- als auch für das Kontrolltier benutzt.)

Die narkotisierte Ratte wurde nun an Kopf und Extremitäten auf ein besonders hergerichtetes Operationstischchen fixiert und die Vena jugularis durch einen Hautschnitt freigelegt. Die Infusion erfolgte mittels eines eigens hierfür konstruierten Gerätes und dauerte genau 2 Stunden.

Es fanden folgende Lösungen Verwendung:

Kristallisiertes Chlortetracyclin (Aureomycin der Firma "Lederle") wurde in physiologischer Kochsalzlösung so gelöst, daß in 1 ccm 300 γ des Wirkstoffes enthalten waren. Von Vitamin B₁₂ (Cytobion Firma Merck), zu dessen Lösung ebenfalls physiologische Kochsalzlösung benutzt wurde, wurde so viel genommen, daß in 1 ccm der fertigen Lösung 15 γ enthalten waren.

Auch der oberflächenaktive Stoff Tween 60 wurde 1 %ig in physiologische Kochsalzlösung aufgenommen.

Während der 2 Stunden wurden von den genannten Lösungen etwa 3,5 ccm infundiert. Sofort nach Beendigung der Infusion wurde die Ratte durch Dekapitation getötet und entblutet.

Den gleichen Versuchsbedingungen unterlag das Kontrolltier, das jedoch nur physiologische Kochsalzlösung erhielt.

4. Aufarbeitung

Die Organe der Versuchs- und Kontrolltiere wurden in genau der gleichen Weise behandelt und aufgearbeitet.

Zur Untersuchung wurden jeweils 12 Organe entnommen und zwar:

- | | | |
|----------------|--------------|------------|
| 1. Hoden | 5. Milz | 9. Leber |
| 2. Darm | 6. Haut | 10. Herz |
| 3. Nieren | 7. Ösophagus | 11. Lunge |
| 4. Nebennieren | 8. Gehirn | 12. Muskel |

Die Organe wurden halbiert, eine Hälfte auf die Gehalte an Desoxyribonukleinsäure (DNS) und Ribonukleinsäure (RNS) untersucht, die andere einer Trockensubstanzbestimmung unterzogen. Wegen der geringen Größe und des geringen Gewichtes wurden dabei Nebennieren und Ösophagus ausgeschlossen, sodaß sich hier die späteren Werte auf das Frischgewicht beziehen.

Von den Hoden wurden Bindegewebsteile und die Nebenhoden entfernt und einer der Aufarbeitung, der andere der Wassergehaltsbestimmung zugeführt.

Ein etwa 12 cm langes Dünndarmstück wurde mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung durchgespült, mit der Schere zerkleinert und geteilt.

Die Nieren wurden aus ihrer Kapsel gelöst.

Die Nebennieren und die Milz wurden von anhaftenden Bindegewebs- und Fetteilen befreit.

Zur Hautuntersuchung diente ein etwa 3 cm²-großes Stück aus der regio mesogastrica. Vor der Entnahme wurden an dieser Stelle die Haare sauber abrasiert. Das Unterhautgewebe wurde entfernt.

Der Ösophagus wurde nach Eröffnen der Brusthöhle in dieselbe zurückgezogen und herausgeschnitten. Wie bei den Nebennieren wurde hier, wie bereits oben erwähnt, auf die Wassergehaltsbestimmung verzichtet.

Das Gehirn mit dem Kleinhirn wurde nach Aufschneiden der Schädelkapsel herausgelöst, von abgehenden Nervensträngen befreit und durch Schnitt in

der Längsfurche geteilt. Die Leber wurde homogenisiert und halbiert.

Der Schnitt, der das Herz in zwei Teile zerlegte, lief durch beide Kammern. Die großen Gefäße wurden vorher entfernt. Aus der Lunge wurden die Hauptbronchen herausgenommen, das Organ in kleine Stücke geschnitten und geteilt.

Zur Untersuchung des Muskels wurde je ein ungefähr kirschkerngroßes Stück aus dem Musculus quadriceps femoris verwendet.

Beide Organhälften wurden nun gewogen. Der zur Wassergehaltsbestimmung vorgesehene Teil wurde dann 24 Stunden bei 40 Grad im Trockenschrank gehalten und anschließend nochmals gewogen. Aus der Differenz ließ sich der prozentuale Wassergehalt errechnen, und dieser wiederum war nötig, um die Trockensubstanzgewichte der verarbeiteten Organteile zu erhalten.

Die Bestimmung sei an Hand eines Rechenbeispiels erläutert:

<u>Hoden (verarbeitet)</u>		<u>Hoden (getrocknet)</u>	
Gesamtgewicht:	5,791	Gesamtgewicht:	5,949
Objekträger:	<u>4,947</u>	Objekträger:	<u>5,055</u>
Frischgewicht:	0,844	Frischgewicht:	0,894
		nach 24 Std.:	5,197
		Objekträger:	<u>5,055</u>
		Trockengewicht:	<u>0,142</u>

Für das Trockensubstanzgewicht des verarbeiteten Organteils galt jetzt folgende Gleichung

$$0,894 : 0,142 = 0,844 : x$$

$$x = \text{verarbeitete Trockensubstanz} = 0,134$$

Die zur Aufarbeitung bestimmten Organteile wurden in eine Reibschale gebracht und mit Seesand verrieben. Die Extraktgewinnung erfolgte im Prinzip nach der Methode von Kosterlitz (58).

Nötige Chemikalien:

1. gereinigter Quarzsand
2. Trichloressigsäure 5 % puriss.
3. Alkohol (95 %)
4. Diäthyl-Äther
5. Perchlorsäure 6 %ig puriss.

Die Organ - Seesand - Gemische wurden zur Ausfällung der Nukleoproteide mit 5 % - Trichloressigsäure aufgeschwemmt und 10 Minuten zentrifugiert. Darauf wurde die Flüssigkeit abgegossen, noch einmal mit Trichloressigsäure nachgewaschen und wieder 10 Minuten zentrifugiert.

Im Gegensatz zu früheren Methoden, bei denen alle Zentrifugate mit einem Äthanol-Äthergemisch 5 Minuten erhitzt worden waren, wurde hier der Arbeitsgang vereinfacht. In einem Vorversuch war nämlich geprüft worden, ob überhaupt diese Extraktionsbehandlung nötig ist. Dabei wurden Organe in 4 Teile geteilt, zwei davon mit und zwei ohne Äthanol - Ätherextraktion aufgearbeitet und der Nukleinsäurebestimmung zugeführt. Aus naheliegenden Gründen wurde der Ösophagus nur halbiert und die Nebennieren in diesem Versuch nicht berücksichtigt.

Bei den gegenübergestellten Zahlen handelt es sich um die auf gleiche Einwaagen (1 g) umgerechneten Extraktionen am "Eppendorf" - Photometer und am Stufenphotometer. Auf der linken Seite sind die beiden Werte mit, auf der rechten die ohne Äthanol - Ätherbehandlung aufgeführt.

Ganz rechts sind die prozentualen Abweichungen der Mittelwerte zusammengestellt.

5. Ergebnis des Vorversuchs

mit Äthanol-Äther			ohne Äthanol-Äther		prozentuale Abwei- chung der Mittelwerte
<u>1. Hoden</u>					
DNS:	0,28	0,31	0,29	0,28	- 3,4 %
	0,38	0,39	0,38	0,40	+ 1,3 %
RNS:	0,41	0,44	0,42	0,45	+ 2,4 %
	0,96	1,04	1,00	0,98	- 2,0 %
<u>2. Darm</u>					
DNS:	0,98	1,10	1,04	1,10	+ 3,0 %
	0,89	0,88	0,92	0,90	+ 2,8 %
RNS:	0,165	0,165	0,165	0,165	0,0 %
	2,48	2,50	2,47	2,49	- 0,4 %
<u>3. Niere</u>					
DNS:	0,50	0,47	0,51	0,48	+ 2,1 %
	0,48	0,44	0,45	0,46	- 1,0 %
RNS:	1,56	1,60	1,61	1,58	+ 1,0 %
	1,00	0,96	1,02	1,03	+ 4,6 %
<u>4. Milz</u>					
DNS:	1,98	2,00	1,41	1,43	-28,6 %
	1,64	1,60	1,50	1,53	- 6,7 %
	0,98	0,96	0,66	0,69	-30,4 %
RNS:	2,80	2,70	2,20	2,20	-20,0 %
	1,54	1,50	1,36	1,38	- 9,8 %
	0,79	0,78	0,72	0,74	- 7,0 %
<u>5. Haut</u>					
DNS:	0,60	0,62	0,68	0,66	+ 9,8 %
	0,36	0,37	0,52	0,50	+36,0 %
RNS:	0,38	0,36	0,52	0,52	+40,5 %
	2,47	2,56	3,20	3,00	+23,3 %

6. Gehirn

DNS:	0,38	0,38	0,53	0,51	+36,8 ‰
	0,51	0,53	0,74	0,72	+40,4 ‰
RNS:	0,85	0,87	1,16	1,21	+37,8 ‰
	1,23	1,27	2,30	2,25	+82,0 ‰

7. Ösophagus

DNS:	1,19		1,00		-16,0 ‰
RNS:	6,58		5,38		-18,2 ‰

8. Leber

DNS:	0,25	0,26	0,25	0,24	- 3,9 ‰
	0,33	0,34	0,32	0,35	0,0 ‰
RNS:	0,23	0,24	0,23	0,22	- 4,2 ‰
	0,26	0,22	0,24	0,24	0,0 ‰

9. Herz

DNS:	0,36	0,34	0,36	0,36	+ 2,9 ‰
	0,22	0,23	0,23	0,21	- 2,2 ‰
RNS:	1,20	1,40	1,30	1,40	+ 3,8 ‰
	1,20	1,10	1,20	1,20	+ 4,3 ‰

10. Lunge

DNS:	0,43	0,45	0,45	0,46	+ 4,6 ‰
	0,67	0,66	0,67	0,66	0,0 ‰
RNS:	0,98	0,96	0,99	0,97	+ 1,0 ‰
	1,40	1,36	1,40	1,38	+ 0,7 ‰

11. Muskel

DNS:	0,055	0,058	0,056	0,054	- 2,6 ‰
	0,21	0,22	0,20	0,23	0,0 ‰
RNS:	0,33	0,30	0,32	0,33	+ 3,2 ‰
	0,53	0,53	0,50	0,53	- 3,0 ‰

Mit Ausnahme der Organe Milz, Haut, Gehirn und Ösophagus ergaben sich Abweichungen der Extraktionsmethode von der einfachen von maximal 4,6 ‰ und durchschnittlich 2,2 ‰.

Da diese Größenordnung innerhalb der Fehlerbreite des Verfahrens liegt,

konnte bis auf die oben erwähnten vier Organe der Arbeitsgang vereinfacht werden.

Milz, Haut, Ösophagus und Gehirn wurden nach der Extraktion mit Äthanol extrahiert und nochmals 5 Minuten zentrifugiert.

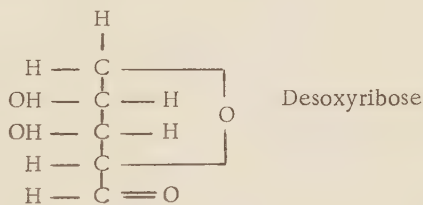
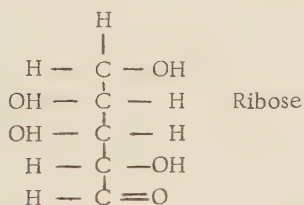
Aus allen Zentrifugaten wurden nun die Nukleinsäuren durch Hydrolyse mit einer 6 %igen Perchlorsäurelösung (15 Minuten in Wasserbad von 90°) herausgelöst, in einen Meßzylinder abfiltriert, der Rückstand mit Perchlorsäure nachgewaschen und die Extraktmenge zur späteren Berechnung festgehalten.

6. Chemische Bestimmungsverfahren

Nukleinsäuren bestehen aus Base, Pentose und o - Phosphorsäure.

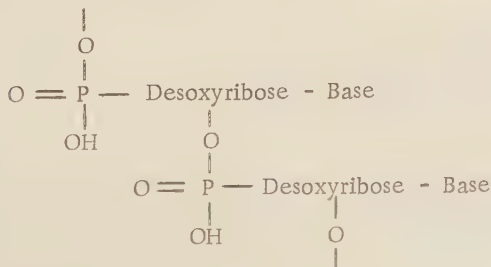
Die Base leitet sich von Purin oder Pyrimidin ab.

Die Pentose kann als Ribose oder als Desoxyribose vorliegen,



wonach man die Nukleinsäuren in RNS und DNS unterscheidet.

Der schematische Bau einer Nukleinsäure, hier als Beispiel DNS, kann folgendermaßen wiedergegeben werden:



Durch Chemikalien wird die Aminobase und die Phosphorsäure abgespalten, während das Kohlehydrat mit dem Reagens eine Farbreaktion eingeht. Aus der Intensität derselben kann man dann auf die vorhandene Nukleinsäuremenge schließen.

DNS - Bestimmung

Die Bestimmung der DNS erfolgte nach der Methode von Bergold und Pister (59).

Nötige Chemikalien:

Blank-Reagens: 100 ccm Essigsäure puriss. + 1,5 ccm Schwefelsäure
p. a. spez. Gewicht 1,835

Dische-Reagens: 100 ccm Essigsäure puriss. + 1 g Diphenylamin p. a.
+ 1,5 ccm Schwefelsäure p. a. spez. Gew. 1,835

Von dem abgemessenen Extrakt werden je 0,5 ccm in vier Reagensgläser pipettiert. In das erste Reagensglas (Blindwert) wurde 1 ccm Blank (= Leerwert) - Reagens, in die übrigen drei je 1 ccm Dische - Reagens pipettiert. Nun kamen die Proben für 15 Minuten in ein siedendes Wasserbad und wurden anschließend 10 Minuten gekühlt. Dann wurde zum Blindwert 1 ccm Dische-Reagens und zu den Farbwerten je 1 ccm Blank-Reagens gegeben. Nachdem man gut durchgemischt hatte, wurden die Farbwerte am Eppendorf-Photometer in 1 ccm - Mikroküvetten bei Filter Hg 578 und Photozelle 90 b gegen den jeweiligen Blindwert bestimmt. Von den drei Extinktionen nahm man den arithmetischen Mittelwert, der dann zur Berechnung des DNS - Gehalts in 1 Gramm Organtrockensubstanz diente.

RNS - Bestimmung

Die Bestimmung der RNS geschah nach dem von Mejsbaum (60) angegebenen Verfahren.

Nötige Chemikalien:

Orcin-Reagens: Eisentrichlorid p. a. in Salzsäure konz. p. a.
In 1 ccm der Lösung 5 mg Orcin p. a.

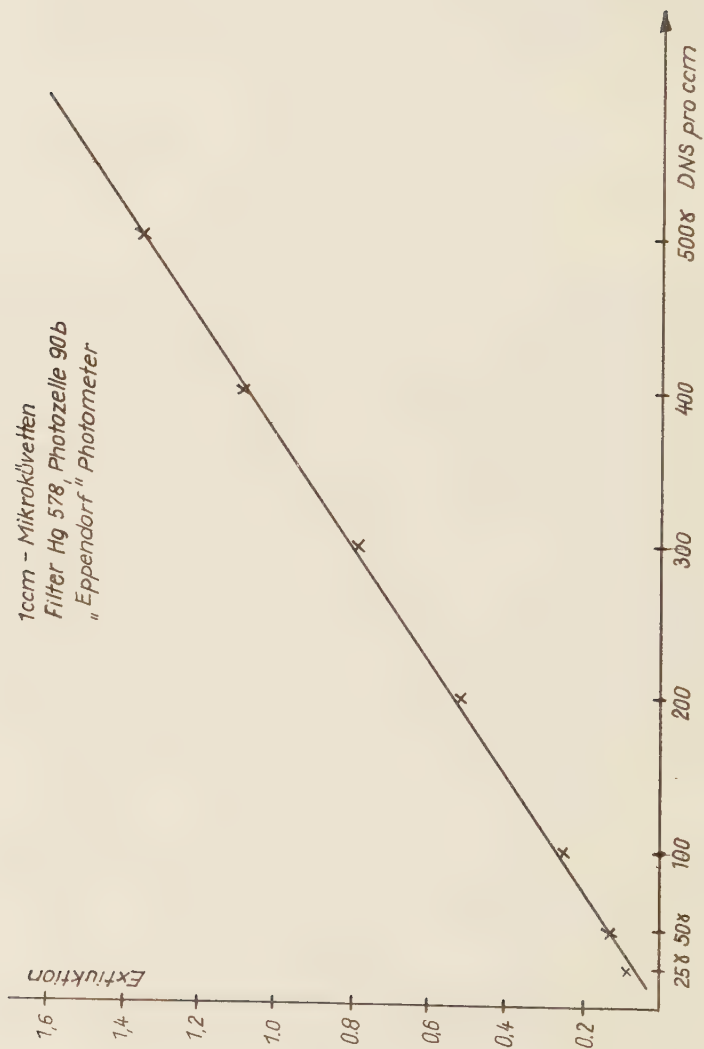
Da diese Methode sehr empfindlich ist, wurden die Organextrakte vorher mit 6%iger Perchlorsäurelösung auf 1/5 - 1/20 verdünnt. Es wurde ebenfalls pro Organ mit drei Parallelproben gearbeitet. Dabei versetzte man

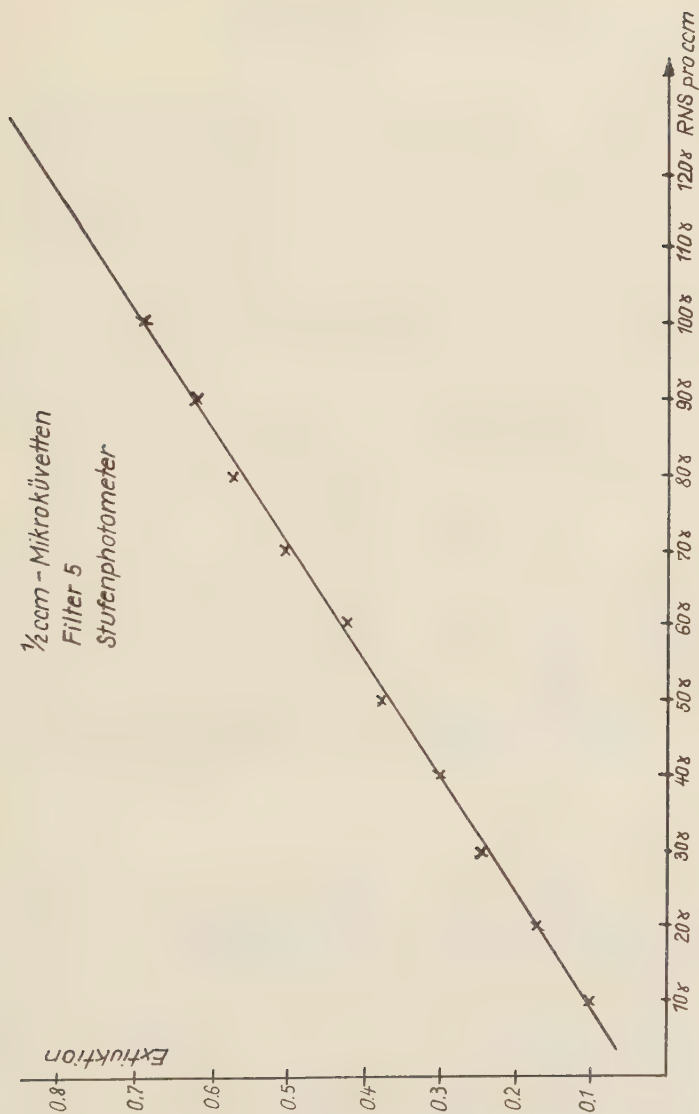
1 ccm des verdünnten Extrakts mit 2 ccm Orcin - Reagens. Die Proben wurden dann 20 Minuten gekocht und, nach Abkühlung, am Stufenphotometer in 1/2 ccm Mikroküvetten bei Filter 5 gegen dest. Wasser gemessen. Auch hier wurde der arithmetrische Mittelwert zur Errechnung der RNS in 1 Gramm Organtrockensubstanz verwendet.

7. Eichkurvenaufstellung

Um von den Extinktionen auf Gewichtswerte von DNS und RNS zu kommen, waren Eichkurven nötig. Als Standard zur Herstellung derselben diente ein DNS- und RNS-Präparat der Firma Schuchardt in München. Diese Präparate wurden in 1 %- Natriumcarbonatlösung aufgelöst, mit 6 %iger Perchlorsäurelösung entsprechend verdünnt und nach den oben beschriebenen Methoden bearbeitet. Es wurden dabei folgende Werte gefunden, die in den angegebenen Eichkurven ihren Niederschlag fanden:

DNS: Konz.	25	50	100	200	300	400	500	%			pro ccm
Ext.	0,08	0,13	0,27	0,56	0,80	1,11	1,37				
RNS: Konz.	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	% pro ccm
Ext.	0,11	18	25	30	37	43	50	57	63	0,69	





8. Berechnungsbeispiel

Umrechnung der DNS - Extinktionen auf mg DNS in 1 g Organtrockensubstanz.

In der DNS - Eichkurve entsprechen 100 $\%$ DNS einer Extinktion von 0,274. Darauf wurden die arithmetischen Mittelwerte der Extinktionen bezogen, sodaß sich folgende Formel ergab:

$$\text{DNS} = \frac{\text{Extinktion mal Perchlorsäureverdünnung} \times 100}{0,274 \text{ mal Organtrockensubstanz}}$$

Beispiel:

$$\begin{aligned} \text{DNS} &= \frac{0,21 \text{ mal } 5 \times 100}{0,274 \text{ mal } 0,040} = 9560 \text{ } \% = \\ &= 9,56 \text{ mg DNS in 1 g Organtrockensubstanz.} \end{aligned}$$

Umrechnung der RNS-Extinktionen auf mg RNS in 1 g Organtrockensubstanz.

Hier wurde jeder $\%$ -Wert direkt aus der Eichkurve abgelesen.

Eine Extinktion von 0,31 entspricht darin zum Beispiel 40 RNS. Die Berechnungsformel lautet hier :

$$\text{RNS} = \frac{\text{abgelesener Wert in } \% \text{ mal Perchlorsäure-Verdünnungen}}{\text{verarbeitete Organtrockensubstanz}}$$

Beispiel:

$$\begin{aligned} \text{RNS} &= \frac{40 \text{ mal } 5 \text{ mal } 4}{0,04} = 20000 \text{ } \% = \\ &= 20 \text{ mg RNS in 1 g Organtrockensubstanz.} \end{aligned}$$

Fehlerberechnung und Ermittlung der statistischen Sicherheit.

Da bei Tierversuchen immer individuelle Schwankungen zu berücksichtigen sind und Vergleichsproben daher stets mit Fehlern behaftet sind, wurden die Paare in einer nach dem allgemein üblichen Verfahren durchgeführten Fehlerberechnung nochmals einander gegenübergestellt.

Dabei wurde zunächst die Streuung der Differenz festgestellt, was mittels Differenzmethode nach folgender Formel geschah:

$$sd = \sqrt{\frac{\sum d^2 - \bar{d} \text{ mal } \sum d}{n(n-1)}}$$

- sd = Streuung dieser Differenz
d = einzelne Differenz
 $\sum d^2$ = Summe sämtlicher ins Quadrat erhobener Differenzen
 $\bar{d}$ = Mittelwert der einzelnen Differenzen
n = Anzahl der Tiere
 $\sum d$ = Summe der Differenzen ..

Nach dieser Berechnung war es möglich, die Grenzwahrscheinlichkeit der Differenzstreuung zu ermitteln. Diese Grenzwahrscheinlichkeit, die angibt, welcher Prozentsatz von den erstellten Werten im Zufallsbereich liegt, wird als p - Wert bezeichnet. Es gilt dabei folgende Einteilung:

- | | |
|-------------------|------------------------------|
| p = kleiner 0,1 % | Differenz sehr gut gesichert |
| p = 0,1 - 1,0 % | Differenz gut gesichert |
| p = 1,0 - 5,0 % | Differenz gesichert |

Dieser p - Wert wird in dem sogenannten t - Test den Ergebnissen gegenübergestellt. Der Wert t ist dabei der Faktor, welcher angibt um wieviel größer die Differenz zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe für eine bestimmte Grenzwahrscheinlichkeit, also p - Wert, sein müßte als die errechnete Streuung der Differenzen (sd). Der t - Wert errechnet sich nach der Formel

$$t = \frac{\bar{d}}{sd}$$

und wird für die entsprechenden Freiheitsgrade (= n - 1) mit dem in der Tabelle befindlichen t - Wert verglichen und dabei ermittelt, für welchen p - Wert er in Frage kommt.

Der Gang dieser Fehlerberechnung sei an folgendem Beispiel demonstriert:

Aureomycinversuch, DNS Milz.

Werte mit phys. NaCl	Werte mit Wirkstoff	d	d ²
25,8	27,8	+ 2,0	4,0
16,9	28,0	+ 11,1	123,2
14,3	18,4	+ 4,1	16,9
17,2	17,0	- 0,2	0,04
10,8	12,0	+ 1,2	1,44
18,2	18,6	+ 0,4	0,16
11,3	18,9	+ 7,6	57,7
19,2	26,0	+ 6,8	46,2
<u>15,6</u>	<u>19,6</u>	<u>+ 4,0</u>	<u>16,0</u>

Arithmetisches Mittel der Kontrollwerte: 16,6

Arithmetisches Mittel der Versuchswerte: 20,7

Gesamtunterschied 4,1

$$\begin{aligned}\bar{d} &= 37 : 9 = 4,1 \\ \sum d &= 37,0 \\ \sum d^2 &= 265,64 \\ n &= 9\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}sd &= \sqrt{\frac{265,64 - 4,1 \text{ mal } 37,0}{9 \text{ mal } 8}} = \sqrt{\frac{265,64 - 151,7}{72}} = \\ &= \sqrt{\frac{113,94}{72}} \approx \sqrt{1,58} \approx 1,26\end{aligned}$$

Die Differenz 4,1 hat also eine Streuung von $\pm 1,26$

$$t = \frac{4,1}{1,26} \approx 3,25$$

Dieser Wert $t = 3,25$ zeigt in der Tabelle für 8 Freiheitsgrade ($n - 1$) einen p-Wert von 1,16%. Statistisch ist also die Zunahme der DNS-Gehalte der Versuchstiere gegenüber den Kontrollen als gut gesichert anzusehen.

E. ERGEBNISSE

Im folgenden Teil sind die Ergebnisse in Tabellen niedergelegt. Es wurden die auf mg DNS beziehungsweise mg RNS in 1 Gramm Trockensubstanz umgerechneten Werte der Versuchstiere und der Kontrollen einander gegenübergestellt. Nur bei den Nebennieren und beim Ösophagus beziehen sich die Werte auf Frischgewicht, da hier keine Trockensubstanzbestimmung möglich war.

1. Aureomycinversuch

Es wurde mit 9 männlichen Tierpaaren gearbeitet.

1. Hoden

DNS		RNS	
NaCl	Aureo.	NaCl	Aureo.
9,5	10,0	24,1	27,9
10,4	13,0	15,0	15,5
10,5	9,5	22,6	29,3
4,9	5,4	14,5	27,9
9,4	10,4	20,4	24,0
7,1	7,2	16,7	17,3
9,8	9,8	31,2	21,6
13,2	12,8	26,6	37,8
<u>10,8</u>	<u>10,0</u>	<u>21,4</u>	<u>23,8</u>
<u>9,5</u>	<u>9,7</u>	<u>21,5</u>	<u>25,0</u>

Keine Differenz !

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $3,6 - 2,2$ ⁺
Diese ist statistisch mit $p = 14,4 \%$ nicht gesichert.

2. Darm

DNS		RNS	
NaCl	Aureo.	NaCl	Aureo.
11,3	13,2	35,5	43,0
5,9	8,7	27,1	32,4
10,0	8,8	23,0	27,6
9,7	8,8	28,8	18,1
9,9	10,6	27,2	32,5
8,3	7,5	21,1	19,1
10,8	11,0	32,8	35,2
11,5	10,3	35,7	32,0
<u>9,9</u>	<u>9,2</u>	<u>29,4</u>	<u>28,8</u>
<u>9,7</u>	<u>9,7</u>	<u>28,9</u>	<u>29,8</u>
<u>Keine Differenz!</u>		<u>Keine Differenz!</u>	

3. Niere

DNS		RNS	
NaCl	Aureo.	NaCl	Aureo.
9,9	8,9	19,6	20,0
10,4	8,8	20,6	20,8
7,2	6,1	19,5	17,4
6,7	6,3	20,3	20,4
7,0	8,0	20,6	27,0
6,8	7,5	16,7	17,6
9,4	9,1	25,2	22,7
11,6	7,2	22,3	20,0
<u>6,2</u>	<u>8,1</u>	<u>22,5</u>	<u>21,7</u>
<u>8,3</u>	<u>7,8</u>	<u>20,8</u>	<u>20,8</u>
<u>Keine Differenz!</u>		<u>Keine Differenz!</u>	

4. Nebenniere

DNS	
NaCl	Aureo.
13,3	15,7
20,9	14,8
10,2	14,0
11,3	14,6
8,7	16,5
11,2	11,6
17,4	19,6
12,2	14,0
<u>13,7</u>	<u>15,3</u>
<u>13,2</u>	<u>15,1</u>

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $1,9 \pm 1,2$

Diese ist statistisch mit $p = 16\%$ nicht gesichert.

RNS	
NaCl	Aureo.
47,7	49,6
38,8	39,6
64,5	62,0
59,0	47,0
49,7	55,0
29,6	52,0
61,5	55,0
39,0	58,0
<u>48,0</u>	<u>51,2</u>
<u>48,6</u>	<u>52,2</u>

Die Zunahme der Versuchsgruppe gegenüber den Kontrollen ist mit $3,5 \pm 3,7$ kleiner als die Streuung.

Diese Differenz ist nicht gesichert.

5. Milz

DNS	
NaCl	Aureo.
25,8	27,8
16,9	28,0
14,3	18,4
17,2	17,0
10,8	12,0
18,2	18,6
11,3	18,9
19,2	26,0
<u>15,6</u>	<u>19,6</u>
<u>16,6</u>	<u>20,7</u>

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $4,1 \pm 1,26$

Diese ist statistisch mit $p = 1,16\%$ gut gesichert.

RNS	
NaCl	Aureo.
45,0	53,0
28,2	30,8
26,2	37,4
23,0	31,9
21,6	32,7
28,4	29,8
20,3	25,5
33,2	42,0
<u>29,1</u>	<u>34,7</u>
<u>28,3</u>	<u>35,3</u>

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $7,0 \pm 1,2$

Diese ist statistisch mit $p =$ kleiner 0,1 sehr gut gesichert.

6. Haut

DNS		RNS	
NaCl	Aureo.	NaCl	Aureo.
3,5	3,7	5,7	13,0
6,3	4,7	6,0	5,6
2,2	4,5	9,4	12,3
2,7	4,9	7,2	6,0
3,2	5,3	8,7	15,8
2,3	3,9	4,4	8,0
3,6	4,5	8,2	8,8
3,1	2,5	7,7	6,7
<u>3,8</u>	<u>4,6</u>	<u>7,6</u>	<u>9,3</u>
<u>3,4</u>	<u>4,3</u>	<u>7,2</u>	<u>9,5</u>

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $0,9 \pm 0,4$

Diese ist statistisch mit $p = 5,6\%$ nicht gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $2,3 \pm 1,1$

Diese ist statistisch mit $p = 6,6\%$ nicht gesichert.

7. Ösophagus

DNS		RNS	
NaCl	Aureo.	NaCl	Aureo.
1,5	2,5	10,2	14,0
2,0	3,7	4,8	9,3
1,3	2,2	11,8	9,9
0,9	1,5	6,6	9,8
0,7	2,1	10,7	13,7
2,3	3,3	10,1	11,8
2,9	3,2	6,8	6,9
2,0	3,8	7,8	10,5
<u>1,0</u>	<u>3,0</u>	<u>6,6</u>	<u>11,4</u>
<u>1,7</u>	<u>2,8</u>	<u>8,4</u>	<u>10,8</u>

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $1,1 \pm 0,16$

Diese ist mit $p = \text{Kleiner } 0,1$ sehr gut gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $2,4 \pm 0,7$

Diese ist statistisch mit $p = 0,8$ gut gesichert.

8. Gehirn

DNS		RNS	
NaCl	Aureo.	NaCl	Aureo.
5, 8	5, 1	11, 6	17, 2
2, 7	3, 5	4, 3	7, 2
3, 2	4, 8	12, 0	12, 4
3, 6	3, 2	9, 4	10, 5
4, 8	3, 6	11, 4	8, 6
1, 5	2, 2	3, 0	6, 3
2, 8	2, 8	7, 8	7, 8
3, 5	2, 6	7, 0	8, 3
<u>2, 8</u>	<u>3, 8</u>	<u>8, 6</u>	<u>9, 8</u>
<u>3, 4</u>	<u>3, 5</u>	<u>8, 3</u>	<u>9, 9</u>

Keine Differenz!

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $1,5 + 0,8$
Diese ist statistisch mit $p = 9,0\%$ nicht gesichert.

9. Leber

DNS		RNS	
NaCl	Aureo.	NaCl	Aureo.
5, 1	4, 7	31, 5	33, 0
4, 3	3, 7	16, 7	17, 8
3, 6	4, 2	30, 0	29, 0
4, 6	4, 8	28, 4	35, 2
4, 6	4, 1	39, 8	31, 0
4, 3	2, 9	13, 4	16, 2
3, 0	4, 5	16, 7	28, 8
4, 7	5, 4	31, 8	33, 4
<u>4, 5</u>	<u>4, 6</u>	<u>26, 3</u>	<u>28, 8</u>
<u>4, 3</u>	<u>4, 3</u>	<u>25, 7</u>	<u>28, 1</u>

Keine Differenz!

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $2,4 + 1,6$
Diese ist statistisch mit $p = 16,7\%$ nicht gesichert.

10. Herz

DNS		RNS	
NaCl	Aureo.	NaCl	Aureo.
7,5	5,4	12,5	17,5
6,2	5,3	7,5	12,6
3,3	4,1	13,0	17,3
2,4	3,6	12,9	10,1
1,9	4,3	12,0	21,4
2,4	5,0	18,0	13,1
7,5	9,3	21,0	23,4
5,1	6,3	13,0	13,6
<u>4,1</u>	<u>5,2</u>	<u>14,4</u>	<u>15,8</u>
<u>4,5</u>	<u>5,4</u>	<u>13,8</u>	<u>16,1</u>

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $0,9 \pm 0,5$

Diese ist statistisch mit $p = 10,5\%$ nicht gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $2,3 \pm 1,6$

Diese ist statistisch mit $p = 16,7\%$ nicht gesichert.

11. Lunge

DNS		RNS	
NaCl	Aureo.	NaCl	Aureo.
14,9	14,8	18,0	19,1
12,2	11,0	18,2	19,2
8,9	8,5	15,5	15,1
10,5	11,6	16,2	18,3
10,5	10,8	18,5	21,0
10,8	7,9	15,4	20,0
13,5	13,6	22,9	24,4
13,1	12,7	20,6	22,6
<u>12,1</u>	<u>11,9</u>	<u>18,6</u>	<u>18,8</u>
<u>11,8</u>	<u>11,4</u>	<u>18,2</u>	<u>19,8</u>

Keine Differenz!

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $1,6 \pm 0,5$

Diese ist statistisch mit $p = 1,08\%$ gesichert.

12. Muskel

DNS		RNS	
NaCl	Aureo.	NaCl	Aureo.
2, 2	2, 2	8, 7	11, 5
2, 8	0, 9	4, 1	4, 0
4, 1	3, 2	9, 8	14, 9
0, 9	1, 3	6, 0	6, 5
1, 2	1, 1	7, 8	11, 0
1, 0	1, 8	5, 8	8, 4
3, 0	2, 9	10, 1	6, 5
2, 3	3, 1	9, 3	6, 5
<u>2, 4</u>	<u>2, 5</u>	<u>5, 7</u>	<u>9, 6</u>
<u>2, 2</u>	<u>2, 1</u>	<u>7, 5</u>	<u>9, 1</u>

Keine Differenz!

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $1,6 \pm 0,9$

Diese ist statistisch mit $p = 12,4\%$ nicht gesichert.

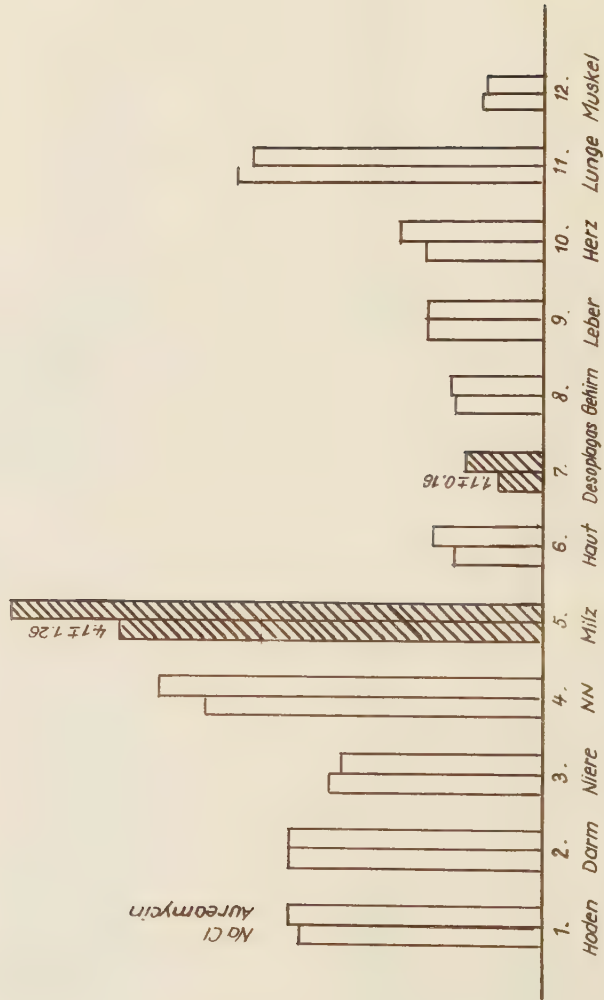
Zusammenfassung:

DNS			RNS		
Differenz		p	Differenz		p
Hoden: keine	-		3, 6 $\pm$ 2, 2	14, 4 %	
Darm: keine	-		keine	-	
Niere: keine	-		keine	-	
Nebenn.: 1, 9 $\pm$ 1, 2	16, 0 %		3, 5 $\pm$ 3, 7	-	
Milz: 4, 1 $\pm$ 1, 26	1, 16 % +		7, 0 $\pm$ 1, 2	< 0, 1 % +++	
Ösoph.: 1, 1 $\pm$ 0, 16	0, 1 % +++		2, 4 $\pm$ 0, 7	0, 8 % ++	
Gehirn: keine	-		1, 5 $\pm$ 0, 8	9, 0 %	
Leber: keine	-		2, 4 $\pm$ 1, 6	16, 7 %	
Herz: 0, 9 $\pm$ 0, 5	10, 5 %		2, 3 $\pm$ 1, 6	16, 7 %	
Lunge: keine	-		1, 6 $\pm$ 0, 5	1, 08 % +	
Muskel: keine	-		1, 6 $\pm$ 0, 9	12, 4 %	
Haut: 0, 9 $\pm$ 0, 4	5, 6 %		2, 3 $\pm$ 1, 1	6, 6 %	

Um das Ergebnis übersichtlich zu gestalten, habe ich die erhaltenen Werte auch noch in einer graphischen Aufstellung niedergelegt.

Übersichtstabelle DNS

Aureomycinversuch

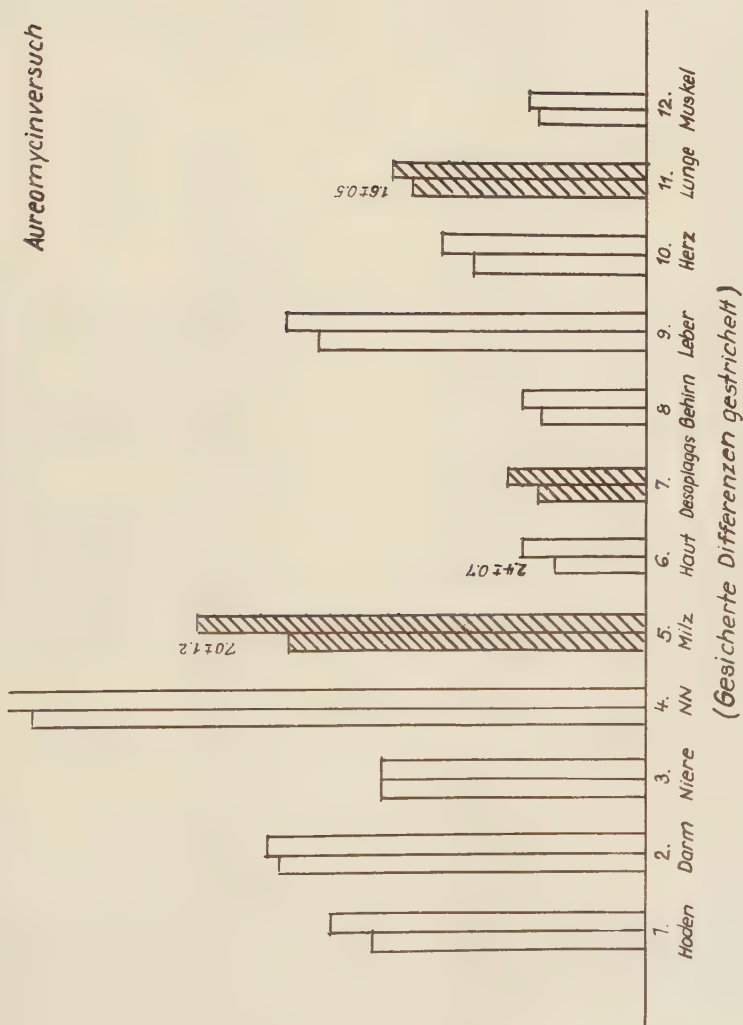


(Besicherte Differenzen gestrichelt)

Maßstab 10 : 1.5

Übersichtstabelle RNS

Aureomycinversuch



2. Vitamin B₁₂ - Versuch

Es wurde mit 8 weiblichen Tierpaaren gearbeitet. Die Geschlechtsorgane wurden nicht berücksichtigt.

1. Darm:

DNS		RNS	
NaCl	Vit. B ₁₂	NaCl	Vit. B ₁₂
14,0	18,2	39,1	48,0
12,2	17,2	39,5	49,5
13,0	17,3	34,7	39,7
14,0	17,8	43,5	45,5
12,5	12,0	39,3	34,6
16,2	17,9	46,0	46,0
15,9	13,1	37,8	46,5
14,0	14,3	38,0	40,5
<u>14,0</u>	<u>16,0</u>	<u>39,7</u>	<u>43,8</u>

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von 2,0 ± 1,0

Diese ist statistisch mit

p = 8,5 % nicht gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von 3,9 ± 1,8

Diese ist statistisch mit

p = 7 % nicht gesichert.

2. Niere

DNS		RNS	
NaCl	Vit. B ₁₂	NaCl	Vit. B ₁₂
13,0	13,2	22,2	22,0
10,0	12,0	26,7	26,2
13,2	12,0	21,6	25,5
12,7	10,0	27,8	29,2
8,2	8,8	26,7	26,7
10,9	10,6	24,4	22,2
9,5	10,4	18,4	20,4
11,7	13,7	24,2	28,0
<u>11,2</u>	<u>11,3</u>	<u>24,0</u>	<u>25,0</u>

Keine Differenz!

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von 1,0 ± 0,7

Diese ist statistisch mit

p = 21 % nicht gesichert.

3. Nebenniere

DNS		RNS	
NaCl	Vit. B ₁₂	NaCl	Vit. B ₁₂
12,5	15,5	40,5	56,5
11,5	15,6	30,3	46,8
11,6	12,6	29,4	35,8
10,6	15,5	37,0	41,0
13,0	12,5	55,0	55,5
12,7	13,2	42,5	46,5
14,8	15,7	47,0	43,0
14,9	14,2	39,9	52,5
<u>12,7</u>	<u>14,4</u>	<u>40,2</u>	<u>47,2</u>

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $1,7 \pm 0,7$

Diese ist statistisch mit

$p = 4,7\%$ gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $7,0 \pm 2,6$

Diese ist statistisch mit

$p = 1,5\%$ gesichert.

4. Milz

DNS		RNS	
NaCl	Vit. B ₁₂	NaCl	Vit. B ₁₂
26,4	27,9	38,9	61,5
26,7	26,2	32,9	41,5
26,6	26,7	35,4	42,0
27,4	28,0	66,0	66,0
25,2	30,3	43,3	66,3
29,1	30,2	39,0	42,5
25,6	30,1	37,6	67,0
25,9	26,0	40,9	45,0
<u>26,6</u>	<u>28,2</u>	<u>41,8</u>	<u>53,9</u>

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $1,6 \pm 0,7$

Diese ist statistisch mit

$p = 5\%$ gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $12,2 \pm 3,9$

Diese ist statistisch mit

$p = 1,7\%$ gesichert.

5. Haut

DNS		RNS	
NaCl	Vit. B ₁₂	NaCl	Vit. B ₁₂
4,3	6,2	9,7	14,9
4,8	4,2	9,7	11,7
7,7	7,2	8,6	21,4
10,5	8,0	20,8	20,9
9,4	8,3	25,0	30,6
10,3	9,6	19,4	20,9
6,0	8,8	14,8	22,8
<u>9,7</u>	<u>6,5</u>	<u>15,4</u>	<u>15,5</u>
<u>7,6</u>	<u>7,4</u>	<u>15,4</u>	<u>20,0</u>

Keine Differenz!

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $4,4 + 1,6$
Diese ist statistisch mit $p = 3,1 \%$ gesichert.

6. Ösophagus

DNS		RNS	
NaCl	Vit. B ₁₂	NaCl	Vit. B ₁₂
2,0	2,3	14,0	12,2
1,9	1,3	12,4	11,0
2,6	2,0	9,8	8,2
2,5	1,5	6,2	7,4
3,7	1,7	12,4	9,1
3,2	1,5	11,7	13,7
2,9	2,3	13,7	11,8
<u>3,5</u>	<u>4,3</u>	<u>11,8</u>	<u>13,6</u>
<u>2,8</u>	<u>2,1</u>	<u>11,5</u>	<u>11,0</u>

Keine Differenz!

Keine Differenz!

7. Gehirn

DNS

RNS

NaCl	Vit. B ₁₂
4,0	4,4
3,8	4,6
4,0	3,6
2,8	4,2
2,3	3,5
4,1	4,2
3,8	3,9
<u>3,7</u>	<u>3,8</u>
<u>3,56</u>	<u>4,03</u>

NaCl	Vit. B ₁₂
6,2	9,3
7,9	9,3
7,3	9,8
9,1	7,8
9,7	10,9
8,2	6,5
11,5	10,2
<u>8,9</u>	<u>9,4</u>
<u>8,6</u>	<u>9,2</u>

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $0,44 \pm 0,21$

Diese ist statistisch mit $p = 7,4\%$ nicht gesichert.

Keine Differenz!

8. Leber

DNS

RNS

NaCl	Vit. B ₁₂
5,1	5,7
6,2	5,4
5,3	7,2
5,9	6,1
3,7	3,7
3,5	2,5
4,4	3,2
<u>5,9</u>	<u>4,5</u>
<u>5,0</u>	<u>4,8</u>

NaCl	Vit. B ₁₂
22,6	24,6
30,2	30,3
23,6	29,2
26,3	24,8
28,0	28,0
23,2	23,2
30,3	33,0
<u>26,2</u>	<u>27,0</u>
<u>26,3</u>	<u>27,5</u>

Keine Differenz!

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $1,2 \pm 0,8$

Diese ist statistisch mit $p = 18\%$ nicht gesichert.

9. Herz

DNS		RNS	
NaCl	Vit. B ₁₂	NaCl	Vit. B ₁₂
7,4	8,0	14,4	31,6
4,4	5,4	11,4	21,6
10,0	9,9	14,5	28,6
7,3	7,9	21,6	25,9
5,5	5,6	19,6	21,6
7,4	8,7	20,6	28,6
8,5	8,0	15,5	26,8
<u>8,0</u>	<u>7,2</u>	<u>17,4</u>	<u>27,4</u>
<u>7,3</u>	<u>7,6</u>	<u>16,8</u>	<u>26,5</u>

Keine Differenz!

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $9,7 \pm 1,7$

Diese ist statistisch mit $p = 0,1\%$ gut gesichert.

10. Lunge

DNS		RNS	
NaCl	Vit. B ₁₂	NaCl	Vit. B ₁₂
12,7	13,9	19,3	13,2
10,9	10,7	17,0	16,5
8,5	9,3	15,5	19,4
9,6	9,8	21,9	14,9
13,7	14,7	27,0	23,2
11,7	14,0	16,8	21,2
13,0	14,2	19,0	22,2
<u>11,1</u>	<u>14,0</u>	<u>19,5</u>	<u>19,0</u>
<u>11,4</u>	<u>12,6</u>	<u>19,5</u>	<u>18,7</u>

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $1,2 \pm 0,35$

Diese ist statistisch mit $p = 1,1\%$ gesichert.

Keine Differenz!

11. Muskel

DNS		RNS	
NaCl	Vit. B ₁₂	NaCl	Vit. B ₁₂
3, 3	2, 9	7, 9	9, 3
2, 4	1, 3	6, 7	7, 5
4, 3	2, 0	7, 6	14, 2
4, 3	3, 0	12, 0	11, 5
2, 2	3, 4	10, 0	15, 5
3, 9	3, 1	15, 0	15, 3
3, 1	2, 1	11, 1	16, 6
<u>4, 7</u>	<u>2, 6</u>	<u>10, 0</u>	<u>10, 2</u>
<u>3, 5</u>	<u>2, 6</u>	<u>10, 0</u>	<u>12, 5</u>

Keine Differenz!

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von 2,5 - 1,0
 Diese ist statistisch mit $p = 4,1\%$ gesichert.

Zusammenfassung:

DNS		RNS	
Differenz	p	Differenz	p
Darm: 2, 0 ⁺ 1, 0	8, 5 %	3, 9 ⁺ 1, 8	7, 0
Niere: keine	-	1, 0 ⁺ 0, 7	21 %
Nebenn.: 1, 7 ⁺ 0, 7	4, 7 % +	7, 0 ⁺ 2, 6	1, 5 % +
Milz: 1, 6 ⁺ 0, 7	5, 0 % +	12, 1 ⁺ 3, 9	1, 7 % +
Haut: keine	-	4, 4 ⁺ 1, 6	3, 1 % +
Ösoph.: keine	-	keine	-
Gehirn: 0, 44 ⁺ 0, 21	7, 4 %	keine	-
Leber: keine	-	1, 2 ⁺ 0, 8	18 %
Herz: keine	-	9, 7 ⁺ 1, 7	0, 1 % ++
Lunge: 1, 2 ⁺ 0, 35	1, 1 % +	keine	-
Muskel: keine	-	2, 5 ⁺ 1, 0	4, 1 % +

Um das Ergebnis übersichtlich zu gestalten, habe ich die erhaltenen Werte auch noch in einer graphischen Aufstellung niedergelegt.

Übersichtstabelle DNS

Vitamin B₁₂-Versuch

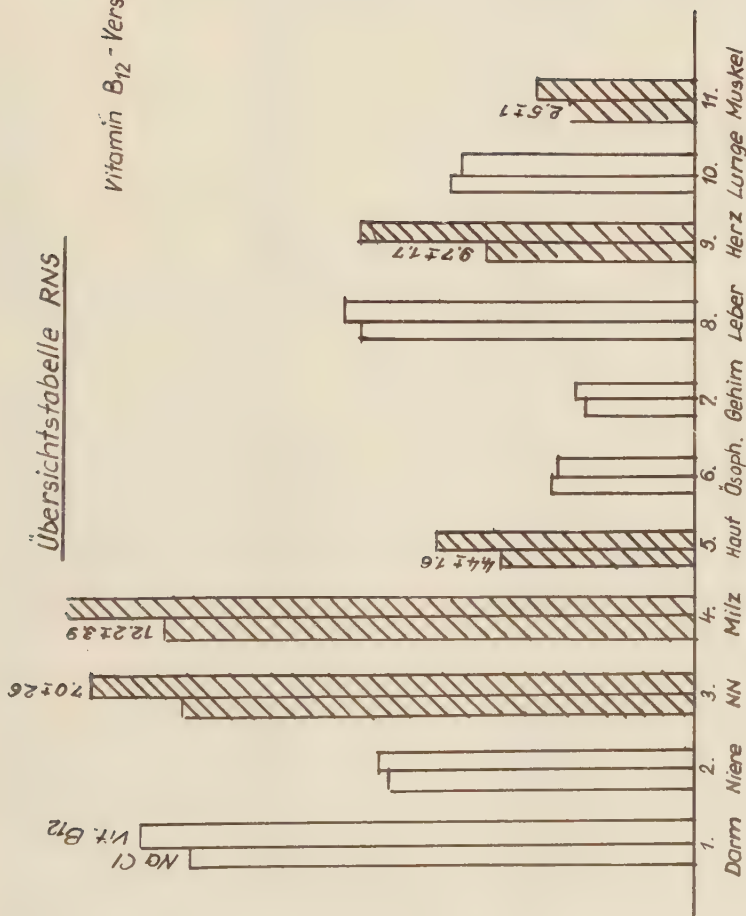


(Gesicherte Differenzen gestrichelt)

Maßstab 1:2

Übersichtstabelle RNS

Vitamin B₁₂ - Versuch



(Besicherte Differenzen gestrichelt)

Maßstab 1:3

3. Tween 60 - Versuch

Es wurde mit 8 Tierpaaren, teils Männchen, teils Weibchen, gearbeitet.
Die Geschlechtsorgane wurden nicht berücksichtigt.

1. Darm

DNS		RNS	
NaCl	Tween	NaCl	Tween
12,5	9,4	35,6	26,5
7,3	10,1	17,6	29,5
8,6	8,9	25,2	29,2
12,5	14,5	37,0	34,8
10,9	16,0	25,6	29,0
8,9	14,8	26,3	29,2
6,8	10,4	27,0	36,0
<u>7,7</u>	<u>7,9</u>	<u>16,3</u>	<u>18,2</u>
<u>9,4</u>	<u>11,5</u>	<u>26,3</u>	<u>29,1</u>

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $2,1 \pm 1,02$
Diese ist statistisch mit $p = 8,0\%$ nicht gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $2,7 \pm 2,3$
Diese ist statistisch mit $p = 27\%$ nicht gesichert.

2. Niere

DNS		RNS	
NaCl	Tween	NaCl	Tween
8,5	8,4	18,5	16,1
7,3	8,3	12,4	20,3
7,4	8,1	23,2	17,0
3,9	10,2	17,1	21,2
8,4	11,6	17,8	22,4
9,8	9,9	24,0	26,8
7,5	6,3	20,8	17,7
<u>10,8</u>	<u>8,0</u>	<u>20,6</u>	<u>25,0</u>
<u>8,6</u>	<u>8,9</u>	<u>19,3</u>	<u>20,8</u>

Keine Differenz!

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $1,5 \pm 1,7$
Diese ist kleiner als die Streubreite, die Differenz ist nicht ge-

3. Nebenniere

DNS		RNS	
NaCl	Tween	NaCl	Tween
13,0	9,1	29,2	19,9
11,3	11,6	21,9	24,0
11,4	11,3	28,2	26,5
16,9	17,2	31,6	40,0
17,0	14,3	26,2	27,9
8,5	12,5	26,7	29,0
13,7	13,5	21,8	26,8
<u>10,6</u>	<u>11,5</u>	<u>28,0</u>	<u>29,0</u>
<u>12,7</u>	<u>12,5</u>	<u>26,7</u>	<u>27,9</u>
<u>Keine Differenz!</u>		Die Differenz ist nicht gesichert.	

4. Milz

DNS		RNS	
NaCl	Tween	NaCl	Tween
24,0	27,0	29,0	26,5
23,5	22,0	18,2	32,6
28,0	16,5	36,0	23,0
28,0	20,3	31,5	30,0
18,3	24,0	21,8	23,3
21,0	21,5	28,2	24,4
23,0	24,0	37,8	41,5
<u>27,0</u>	<u>17,0</u>	<u>27,5</u>	<u>37,0</u>
<u>24,1</u>	<u>21,5</u>	<u>28,8</u>	<u>29,8</u>
<u>Negative Differenz!</u>		Die Differenz ist nicht gesichert.	

5. Haut

DNS		RNS	
NaCl	Tween	NaCl	Tween
4,6	2,7	8,7	5,8
3,5	2,9	4,5	8,3
2,1	2,3	3,9	4,1
5,4	3,0	12,2	4,4
2,8	3,3	6,1	4,8
3,1	3,2	6,5	10,0
3,6	4,7	13,3	13,6
<u>3,8</u>	<u>3,4</u>	<u>7,4</u>	<u>10,2</u>
<u>3,6</u>	<u>3,2</u>	<u>7,8</u>	<u>7,7</u>
<u>Keine Differenz!</u>		<u>Keine Differenz!</u>	

6. Ösophagus

DNS		RNS	
NaCl	Tween	NaCl	Tween
2,3	1,8	6,1	4,2
1,2	1,9	1,7	7,9
1,1	1,3	7,1	3,0
2,8	3,5	12,3	10,8
0,7	2,2	4,6	9,4
2,7	0,6	5,6	3,9
3,0	1,5	13,4	8,2
<u>1,4</u>	<u>1,2</u>	<u>4,7</u>	<u>7,6</u>
<u>1,9</u>	<u>1,8</u>	<u>6,9</u>	<u>6,9</u>
<u>Keine Differenz!</u>		<u>Keine Differenz!</u>	

5. Haut

DNS		RNS	
NaCl	Tween	NaCl	Tween
4,6	2,7	8,7	5,8
3,5	2,9	4,5	8,3
2,1	2,3	3,9	4,1
5,4	3,0	12,2	4,4
2,8	3,3	6,1	4,8
3,1	3,2	6,5	10,0
3,6	4,7	13,3	13,6
<u>3,8</u>	<u>3,4</u>	<u>7,4</u>	<u>10,2</u>
<u>3,6</u>	<u>3,2</u>	<u>7,8</u>	<u>7,7</u>
<u>Keine Differenz!</u>		<u>Keine Differenz!</u>	

6. Ösophagus

DNS		RNS	
NaCl	Tween	NaCl	Tween
2,3	1,8	6,1	4,2
1,2	1,9	1,7	7,9
1,1	1,3	7,1	3,0
2,8	3,5	12,3	10,8
0,7	2,2	4,6	9,4
2,7	0,6	5,6	3,9
3,0	1,5	13,4	8,2
<u>1,4</u>	<u>1,2</u>	<u>4,7</u>	<u>7,6</u>
<u>1,9</u>	<u>1,8</u>	<u>6,9</u>	<u>6,9</u>
<u>Keine Differenz!</u>		<u>Keine Differenz!</u>	

7. Gehirn

DNS		RNS	
NaCl	Tween	NaCl	Tween
2,9	2,2	7,0	6,0
2,3	2,3	3,7	5,4
3,0	3,2	7,5	8,3
4,3	3,3	7,8	8,0
2,9	3,0	6,5	4,6
4,4	4,0	8,9	9,5
3,0	3,3	12,9	10,1
<u>3,4</u>	<u>3,9</u>	<u>8,1</u>	<u>9,7</u>
<u>3,3</u>	<u>3,2</u>	<u>7,8</u>	<u>7,7</u>
<u>Keine Differenz!</u>		<u>Keine Differenz!</u>	

8. Leber

DNS		RNS	
NaCl	Tween	NaCl	Tween
4,2	3,8	28,8	27,4
3,8	3,7	22,2	26,6
3,9	3,6	29,2	28,4
3,1	4,3	28,1	25,1
5,1	5,7	28,0	21,8
3,5	4,0	26,0	26,1
3,0	3,3	22,2	25,0
<u>3,4</u>	<u>4,0</u>	<u>21,4</u>	<u>28,4</u>
<u>3,8</u>	<u>4,1</u>	<u>25,7</u>	<u>26,1</u>
		<u>Keine Differenz!</u>	

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von 0,3⁺ - 0,19

Diese ist statistisch mit

$p = 8,0\%$ nicht gesichert.

9. Herz

DNS		RNS	
NaCl	Tween	NaCl	Tween
4, 8	3, 7	11, 2	12, 4
3, 2	2, 3	12, 3	11, 3
3, 8	3, 2	10, 6	11, 2
4, 3	7, 3	15, 0	14, 9
3, 3	9, 8	9, 3	18, 7
5, 8	5, 6	15, 5	18, 6
3, 3	4, 9	12, 6	16, 2
<u>3, 8</u>	<u>4, 6</u>	<u>11, 4</u>	<u>17, 6</u>
<u>4, 0</u>	<u>5, 2</u>	<u>12, 3</u>	<u>15, 1</u>

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $1,1 \pm 0,9$

Diese ist statistisch mit $p = 34\%$ nicht gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $2,9 \pm 1,2$

Diese ist statistisch mit $p = 4,3\%$ gesichert.

10. Lunge

DNS		RNS	
NaCl	Tween	NaCl	Tween
9, 8	9, 8	20, 3	17, 0
9, 8	13, 0	14, 2	27, 0
9, 6	13, 7	13, 5	21, 8
13, 7	12, 0	17, 5	21, 8
9, 9	10, 1	13, 5	22, 8
14, 8	17, 0	23, 4	22, 4
11, 4	9, 1	22, 0	21, 4
<u>8, 1</u>	<u>9, 1</u>	<u>15, 8</u>	<u>22, 8</u>
<u>10, 9</u>	<u>11, 7</u>	<u>17, 5</u>	<u>22, 1</u>

Die Zunahme der Versuchsgruppe gegenüber den Kontrollen ist mit $0,8 \pm 0,8$

gleich der Streuung, die Differenz ist nicht gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $4,6 \pm 2,0$

Diese ist statistisch mit $p = 4,3\%$ gesichert.

11. Muskel

DNS	
NaCl	Tween
1,3	1,3
0,6	1,3
1,0	1,3
1,9	2,9
1,3	2,8
1,9	2,0
0,8	1,8
0,8	1,4
1,2	1,85

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $0,65 \pm 0,19$

Diese ist statistisch mit

$p = 0,95 \%$ gut gesichert.

RNS	
NaCl	Tween
3,9	4,6
3,7	6,3
2,8	7,2
9,0	8,1
5,1	10,4
9,5	9,4
5,7	8,7
5,7	6,3
5,7	7,6

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme von $1,9 \pm 0,8$

Diese ist statistisch mit

$p = 4,3 \%$ gesichert.

Zusammenfassung:

DNS		
Differenz		p
Darm:	$2,1 \pm 1,02$	8,0 %
Niere:	keine	-
Nebenn.:	keine	-
Milz:	negativ	-
Haut:	keine	-
Ösoph.:	keine	-
Gehirn:	keine	-
Leber:	$0,3 \pm 0,19$	8,0 %
Herz:	$1,1 \pm 0,9$	34 %
Lunge:	$0,8 \pm 0,8$	-
Muskel:	$0,65 \pm 0,19$	0,95 % ++

RNS		
Differenz		p
	$2,7 \pm 2,3$	27 %
	$1,5 \pm 1,7$	-
	keine	-
	keine	-
	keine	-
	keine	-
	keine	-
	keine	-
	$2,9 \pm 1,2$	4,3 % +
	$4,6 \pm 2,0$	4,3 % +
	$1,9 \pm 0,8$	4,3 % +

Um das Ergebnis übersichtlich zu gestalten, habe ich die erhaltenen Werte auch noch in einer graphischen Aufstellung niedergelegt.

Übersichtstabelle DNS

Tween 60 - Versuch

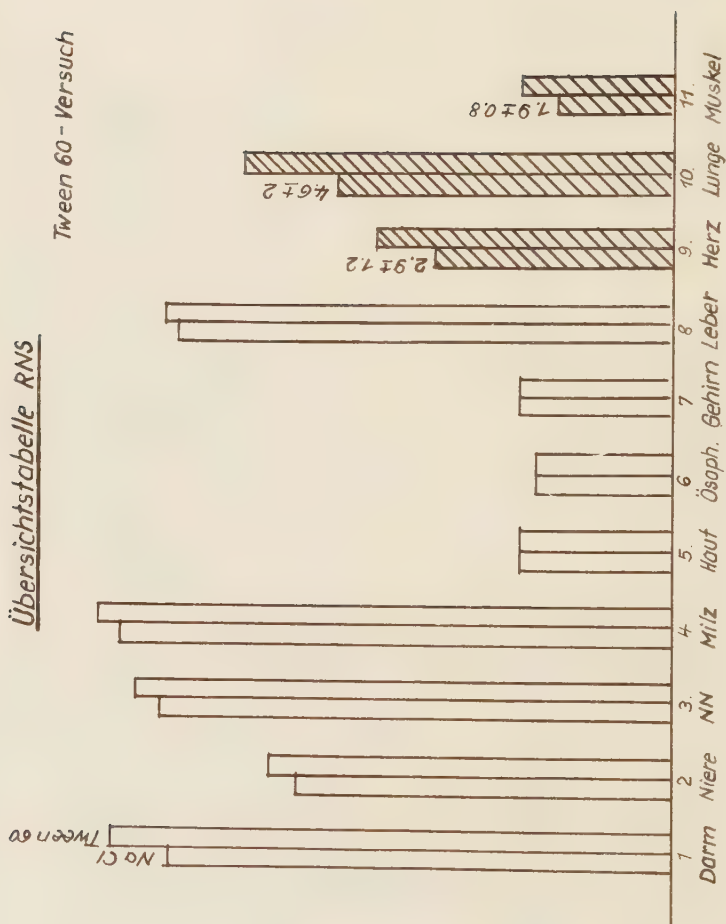


(Gesicherte Differenzen gestrichelt)

Maßstab 1:1,5

Übersichtstabelle RNS

Tween 60 - Versuch



(Gesicherte Differenz gestrichelt)

Maßstab 1:2

F. DISKUSSION

Die Ergebnisse zeigen, daß unter den hier vorliegenden Gegebenheiten der Versuchsanstellung sowohl Aureomycin und Vitamin B₁₂ als auch Tween 60 einen Einfluß auf die Nukleinsäuregehalte verschiedener Gewebe ausüben können. Dieser Einfluß der einzelnen untersuchten Substanzen ist jedoch nicht gleichgerichtet. Auch läßt sich keine direkte Parallele in der Wirkung auf die DNS einerseits und auf die RNS andererseits feststellen. Die einzelnen Organe scheinen ebenso unterschiedlich auf die verabfolgten Stoffe anzusprechen. Dies ist nicht verwunderlich, da sich die getesteten Substanzen in ihrem chemischen Bau und physiologischen Verhalten grundsätzlich voneinander unterscheiden. Eine gemeinsame Diskussion aller Befunde scheint daher nicht angebracht. Die Ergebnisse der drei untersuchten Substanzen in ihrem Einfluß auf den Nukleinsäurestoffwechsel sollen getrennt betrachtet werden.

1. Aureomycinversuch

Seit der Entdeckung der Wachstumswirksamkeit kleinster Antibioticadosierungen in Fütterungsrationen hat es an Versuchen nicht gefehlt, die biochemische Wirkungsweise dieses Effektes aufzuklären. Da die Antibiotica in therapeutischer Dosierung antibakteriell wirken, lag zunächst die Vermutung nahe, daß dieser Wachstumseffekt ebenfalls über eine Beeinflussung der mikrobiellen Flora des Organismus verlief. So haben zahlreiche Autoren den Einfluß kleinster peroral verabreichter Aureomycindosierungen auf die Darmflora untersucht (Kline, Kastelle, Ashton, Homeyer, Quinn und Catron (13), Colby, Ran und Dunn (18), Quinn, Storry Catron, Jensen und Whalen (19), Elam, Jacobs, Tidwell, Gee und Couch (20)). Die Ergebnisse scheinen jedoch nicht ganz einheitlich zu sein. Wenn manche Autoren eine Veränderung der Darmflora hinsichtlich der Qualität und Quantität der Mikroorganismen herausstellen konnten (18, 19, 20), blieben in anderen Versuchen derartige Beeinflussungen aus. Diese unterschiedlichen Resultate dürften unseres Erachtens zum größten Teil auf methodische Schwierigkeiten zurückzuführen sein, da es sehr schwer ist, für eine Tiergattung eine Norm für die Darmflora aufzustellen und physiologisch exakte Zahlen hinsichtlich Art und Menge der vorhandenen Mikroorganismen

anzugeben.

Wenn somit nicht eindeutig entschieden werden kann, ob Antibiotica bei Verfütterung kleinster Mengen die Intestinalflora in ihrer Zusammensetzung beeinflussen können, so hat man doch festzustellen versucht, ob zumindest die biochemische Leistung der im Intestinum vorhandenen Kleinlebewesen stimuliert wird. Hierbei wurden speziell die Vitaminsynthesen studiert. In dieser Richtung durchgeführte Untersuchungen von Stokstad und Jukes (21), Biely und March (22), Sauberlich (23) und Diamant, Halevy und Guggenheim (24) ließen tatsächlich einen Effekt auf die Vitaminsynthese der Mikroorganismen erkennen.

Über diese beiden Möglichkeiten hinaus wurde auch noch eine dritte Beeinflussung der Bakterienflora durch Antibiotica diskutiert, nämlich die einer Verringerung des sog. "disease level". Dieser Begriff wurde in der Annahme geprägt, daß jeder Organismus sich in der Auseinandersetzung mit seiner Umwelt mit auf ihn schädigend einwirkenden Reizen abzufinden hat. Je größer derartige Reize sind, desto höher ist dieser "disease level". Ein Faktor dieses "disease level" könnten z.B. subklinische Infektionen sein, die durch die Antibioticaverfütterung günstig im Sinne einer Unterdrückung beeinflußt werden könnten (Jukes (1)).

Obwohl diese teilweise experimentell belegten Hypothesen durchaus allein genügen könnten, eine Antibioticawachstumswirkung zu erklären, hat es nicht an Versuchen gefehlt, die sich mit der intermediären Wirkung des Aureomycins im Organismus befaßten. So hat Luckey (28) in seinen umfangreichen Untersuchungen mit steril aufgezogenen Tieren, deren Intestinaltrakt also keine Mikroorganismen enthielt, ebenfalls Wachstumswirkungen durch Aureomycinverfütterung erzielt. Auch Brüggemann (62) hat bereits 1955 auf die Möglichkeit der Resorption der Antibiotika, ihrer Ablagerung im Organismus und damit einer intermediären Wirkungsentfaltung hingewiesen, eine Hypothese, die durch Untersuchungen im eigenen Institut gestützt wurde. (29)

Die hier vorliegenden Ergebnisse über den Einfluß des Aureomycins auf den Nukleinsäurestoffwechsel beweisen, daß das Aureomycin grundsätzlich in der Lage ist, in den intermediären Stoffwechsel des Organismus einzugreifen. Wenn auch heute noch nicht gesagt werden kann, warum vor allen Dingen die Gesamtnukleinsäuren der Milz und des Oesophagus auf Aureo-

ansprechen, die Lunge hingegen nur einen RNS-Anstieg zeigt und die anderen Organe überhaupt keine Beeinflussung wahrnehmen lassen, so erscheint doch die Feststellung wesentlich, daß überhaupt ein intermediärer Effekt durch das Aureomycin nachgewiesen werden konnte.

In welchem Umfange die beobachteten intermediären Effekte des Aureomycins in Fütterungsdosierung einen wesentlichen Beitrag zu einer Wachstumsstimulierung des gesamten Organismus leisten können, kann hier nicht gesagt werden, zumal ja nur in drei Organen, nämlich Milz, Oesophagus und Lunge, eine Beeinflussung der Nukleinsäuregehalte festgestellt werden konnte. Berücksichtigt man jedoch, daß es sich bei dem hier vorliegenden Experiment um einen sogenannten "Kurzzeitversuch" handelt, die am landwirtschaftlichen Nutztier im allgemeinen bis zu 10 % des Gesamtkörpergewichts betragende Wachstumssteigerung jedoch in einer Fütterungsperiode von mehreren Monaten zum tragen kommt, so erhebt sich die Frage, ob hier überhaupt eine intermediäre Wirkung quantitativ erfaßbar ist. Der Umstand, daß gerade in den vorher genannten drei Organen ein intermediärer Effekt im Gegensatz zu den übrigen feststellbar ist, könnte seine Begründung in einer unterschiedlichen Diffusionsgeschwindigkeit des Chlortetracyclins in den einzelnen Organen finden.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß bei dem zu beobachtenden Wachstumseffekt des Chlortetracyclins in Fütterungsdosierung durchaus mit einem unmittelbaren Einfluß auf intermediäre Stoffwechselvorgänge gerechnet werden kann. Ob sich dieser auf den Nukleinsäurestoffwechsel allein beschränkt oder sich auch auf andere Fermentsysteme ausdehnt, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Vitamin B₁₂ - Versuch

Die Versuchsergebnisse über den Einfluß des Vitamins B₁₂ auf den Nukleinsäurestoffwechsel lassen erkennen, daß vornehmlich die Milz und die Nebennieren einen Anstieg von Desoxyribonukleinsäure und Ribonukleinsäure aufweisen. Der vermehrte NS-Gehalt in den Nebennieren könnte zu der Vermutung Anlaß geben, daß eventuell über die spezielle Stimulierung einer im hormonellen Geschehen zentral stehenden Drüse der Gesamtkörper beeinflusst wird.

In einem derartigen Falle müßte man jedoch mit einer gleichsinnigen Reaktion sämtlicher Organe des Körpers rechnen. Außerdem konnte man annehmen, daß für eine Gesamtkörperwirkung über die spezielle Stimulierung einer Hormondrüse eine längere Zeitdauer nötig sein würde, als die von uns gewählte von etwa 2 Stunden. Die unterschiedlichen Ergebnisse in den einzelnen Organen lassen erkennen, daß ein gleichgerichtetes Verhalten der Nukleinsäuren im ganzen Körper nicht gegeben ist. Aus diesen Gründen sollte angenommen werden, daß das Vitamin B₁₂ in unserer Versuchsanstellung lediglich einen direkten Einfluß auf die einzelnen beschriebenen Organe ausübt.

In diesem Zusammenhang ist es jedoch interessant, die über das Vitamin B₁₂ bereits vorliegenden Untersuchungen zu diskutieren. So konnten z.B. Sahasrabudhe und Rao (46), Rose und Schweigert (47) und Rasch, Swift und Schweigert (48) eine Beeinflussung der Nukleinsäuregehalte der Rattenleber nach Vitamin B₁₂-Gaben nachweisen. Im Gegensatz hierzu konnten wir mit unserer Versuchsanstellung keinen Lebereffekt beobachten. Diese Unterschiede könnten darauf zurückzuführen sein, daß die genannten Verfasser (47 und 48) als Kontrolltiere Vitamin B₁₂-Mangeltiere verwendeten, während in den eigenen Versuchen mit Normaltieren gearbeitet wurde, denen durch eine entsprechende Infusion der Vitamin B₁₂-Blutspiegel erhöht wurde. Anscheinend ist der Effekt von Vitamin B₁₂ auf Vitamin B₁₂-Mangeltiere im Hinblick auf die Nukleinsäurebeeinflussung erheblich größer, als die höhere Dosierung desselben auf einen mit normalen Vitamin B₁₂-Mengen versorgten Körper. Das gleiche gilt wohl für die Untersuchungen von Sahasrabudha und Rao (46).

Beim Vergleich dieser Versuche könnte auch eine andere Erklärung gegeben werden, nämlich die, daß die intravenöse Applikation des Vitamins B₁₂ zu anderen Gewebsspiegeln im Körper führt, als die perorale Verabreichung.

Sehr schöne Übereinstimmung zeigen die hier erzielten Ergebnisse mit denen von Venkataraman und Barnum (50), die durch die Ermittlung der Einbaurate von 32-Phosphor in die DNS und RNS der Leber und Milz eine Stimulierung der Nukleinsäuren durch Vitamin B₁₂ nachweisen konnten. Nach ihren Untersuchungen ergaben sich in der Leber keine wesentlichen Veränderungen.

Bei der zusammenfassenden Betrachtung der Diskussionsbemerkungen läßt sich die gleiche Feststellung wie für das vorher diskutierte Aureomycin treffen.

Es scheint ziemlich sicher bewiesen zu sein, daß das Vitamin B₁₂ im Stoffwechsel der Nukleinsäurefunktionen entfaltet und seine Wachstumswirksamkeit zumindest auch zum Teil durch diese Wirkung erklärt werden kann.

3. Tween 60 - Versuch

Der Einfluß oberflächenaktiver Substanzen auf das Wachstum ist seit dem Jahre 1953 näher untersucht worden, nachdem in Amerika nach Verfütterung derselben Wachstumseffekte beobachtet werden konnten. Da derartige Stoffe die Eigenschaft haben, bei biphasischen Systemen eine bessere Emulgierbarkeit zu erzielen, hat man zunächst vermutet, diese Substanzklasse würde die Resorption der Nährstoffe im Magendarmtrakt vermehren. Hierüber sind von Perry (53) und seinen Mitarbeitern und von Eder und Horn (54) Untersuchungen durchgeführt worden. Es ließ sich erkennen, daß der größte Wachstumseffekt bei begrenzter Futtermenge erzielt wird, während bei Sattfütterung kein verbessertes Wachstum durch oberflächenaktive Stoffe nachgewiesen werden kann. Über eine bestimmte, anatomisch bedingte Grenze hinaus, läßt sich keine bessere Emulgierung erreichen.

Darüber hinaus kann man jedoch auch grundsätzlich annehmen, daß oberflächenaktive Substanzen im Darm resorbiert werden und in den Blutkreislauf und somit in die Gewebe des Körpers gelangen. Daher erschien es interessant, am Beispiel des oberflächenaktiven Stoffes Tween 60 den Einfluß auf den Nukleinsäurestoffwechsel zu studieren. Tatsächlich ließen sich auch im Muskel eine Stimulation der DNS und in Herz, Lunge und Muskel eine Stimulation der RNS feststellen. Hinsichtlich der Größe der Beeinflussung fällt besonders das Muskelgewebe auf, in dem sowohl die DNS als auch die RNS signifikante Zunahmen nach Tween 60 - Verabreichung zeigen. Ob diesem Ergebnis eine tiefere Bedeutung zukommt, kann hier nicht mit Sicherheit gesagt werden. Auf jeden Fall kann herausgestellt werden, daß auch mit dem oberflächenaktiven Stoff Tween 60 im intermediären Stoffwechsel ein Effekt auszulösen ist.

Zusammenfassend läßt sich die ursprünglich aufgestellte Hypothese, die drei hier verwendeten wachstumswirksamen Substanzen könnten im Organismus eine intermediär-biochemische Wirkung entfalten, durch das Experiment bestätigen. Wenn dieses Ergebnis auch nur für die hier angegebene Versuchsanstellung Gültigkeit hat, so darf doch angenommen werden, daß die hier mit der etwa 10-fachen Fütterungsdosierung erreichten biochemischen Effekte auch für die Normaldosierung in der Fütterung wenigstens zum Teil Gültigkeit haben. Daß eine höhere Dosierung ausgewählt wurde, lag lediglich daran, daß die Möglichkeiten des analytischen Auflösungsvermögens es nicht gestatten, die bei Normaldosierung zu erwartenden Effekte signifikant zu erfassen.

Die bei allen drei Substanzen bereits nach 2 Stunden Versuchsdauer beobachteten Stimulationen lassen vermuten, daß es sich bei den vorliegenden Ergebnissen um eine direkte Beeinflussung der einzelnen Organe mit Nukleinsäure-Veränderungen handelt. Die Stimulation derselben über ein Zentralorgan erscheint unwahrscheinlich.

G. ZUSAMMENFASSUNG

Die biochemische Wirkungsweise der wachstumsfördernden Substanzen Aureomycin, Vitamin B₁₂ und Tween 60 ist nach dem gegenwärtigen Literaturstand noch nicht vollständig gesichert. Verschiedene Versuchsergebnisse lassen eine Wirkung der genannten Stoffe auf den Nukleinsäurestoffwechsel verschiedener Organe erwarten. Dies gilt vor allem für Aureomycin und Vitamin B₁₂. Durch die eigenen Untersuchungen sollte weitgehend geklärt werden, ob und in welchem Umfang sich diese Vermutung bestätigen läßt.

Versuchsratten im Gewicht von 50 - 100 Gramm wurden in Urethannarkose gelegt und erhielten für eine Dauer von 2 Stunden eine der genannten Substanzen intravenös infundiert, während den Kontrollen nur das jeweilige Lösungsmittel appliziert wurde. Sofort nach dieser Behandlung wurden die Tiere getötet, entblutet, die Organe entnommen, chemisch aufgearbeitet und auf die Gehalte an Desoxyribonukleinsäure (DNS) und Ribonukleinsäure (RNS) untersucht. Die gefundenen Werte wurden auf mg Nukleinsäure je g Organtrockensubstanz umgerechnet und für etwaige Unterschiede die statistische Sicherheit bestimmt. Gesicherte Zunahmen wurden durch Applikation der interessierenden Substanzen in folgenden Organen gefunden:

Aureomycinversuch:	DNS : Milz und Ösophagus
	RNS : Milz, Ösophagus und Lunge
Vitamin B ₁₂ -Vers.:	DNS : Nebennieren, Milz und Lunge
	RNS : Nebennieren, Milz, Haut, Herz und Muskel
Tween 60 - Versuch:	DNS : Muskel
	RNS : Herz, Lunge und Muskel

Die hier gewonnenen Ergebnisse wurden im Vergleich mit in der Literatur bereits vorhandenen diskutiert.

H. LITERATURANGABEN

1. Jukes T.H.; Antibiotics in Nutrition
Med. Encyclopedia Inc. New York 1955
2. Whitehill A.R., Proc. soc. exper. Biol. a. Med. 74, 11 - 13,
Obson, J.J.; 1950
Hutchings B.L.;
3. Jukes T.H.; Arch. of Biochem. 26, 324 - 325, 1950
Stokstad E.L.R.;
Taylor R.R.;
Cunha T.J.;
Edwards H.M.;
Meadows G.B.;
4. Atleinson R.L.; J. Nutrit. 44, 249 - 263, 1951
Couch J.R.;
5. Rusoff L.L.; J. Nutrit. 45, 289 - 300, 1951
Davis A.V.;
Alford J.A.;
6. Carpenter L.E.; Arch. of Biochem. and Biophysics
32, 187 - 191, 1951
7. Cunha T.H.; Arch. of Biochem. 30, 269 - 271, 1951
Meadows G.B.;
Edwards H.M.;
Fewell R.F.;
Pearson A.M.;
Glasscock R.S.;
8. Amrich L.; Proc. Soc. exper. Biol. a.
Lewis E.M.; Med. 80, 401 - 404, 1952
Morgan A.F.;

9. Mirone L.; Antibiotics a. Chemother. 3, 600 - 602, 1953
10. Piccioni M.; Boll. Soc. ital. Biol. sper. 29, 322 - 324, 1953
11. Calet C.; C. r. Acad. Sci. (Paris)
Rerat A.; 238, 1071 - 1073, 1954
Jacquot R.;
12. Dickinson C.D.; Brit. J. Nutrit. 8, 380 - 385, 1954
13. Kline E.A.; J. Nutrit. 53, 543 - 555 1954
Kastelie J.;
Ashton G.G.;
Homeyer P.G.;
Quinn L.;
Catron D.V.;
14. Calet C.; C. r. Acad. Sci. (Paris) 241, 991 - 993, 1955
15. Ozawa E.; J. Antibiotics (Tokyo) Ser. A 9, 67 - 70, 1956
J. Antibiotics (Tokyo) 8, 212 - 214, 1955
J. Antibiotics (Tokyo) Ser. A 9, 71 - 74, 1956
16. Brüggemann J.; Schlußwort zum AntibiotikaSymposium 1954
in München
17. Hewes C.C.; Nutrition Abstracts, August 1956, 748
18. Colby R.W.; Proc. Soc. exper. Biol. a.
Ran F.A.; Med. 75, 234 - 236, 1950
Dunn R.C.;
19. Quinn L.Y.; Antibiotics a. Chemother. 3, 527 - 533
Story C.D.; 1953
Catron D.V.;
Jensen A.H.;
Whalen W.M.;

20. Elam J.F.; J. Nutrit. 49, 307 - 317, 1953
Jacobs R.L.;
Tidwell W.L.;
Gee L.L.;
Couch J.R.;
21. Stokstad E.L.R.; Proc. Soc. exoer. Biol. a.
Jukes T.H.; Med. 76, 73 - 76, 1951
22. Biely J.; Science (Lancaster Pa) 114, 330 - 331, 1951
March B.;
23. Sauberlich H.E.; J. Nutrit. 46, 99 - 108, 1952
24. Halevy S.; Brit. J. Nutrit. 9, 57 - 62, 1955
Diamant E.J.;
Guggenheim E.;
25. Dhopeshwarkar G.A.; Brit. J. Nutrit. 10, 105 - 110, 1956
Trivedi J.C.;
Kulkarni B.S.;
Satoskar R.S.;
Lewis R.A.;
26. Berry M.E.; J. Nutrit. 54, 271 - 284 1954
Schuck C.;
27. Francois A.C.; Europäisches Symposium über Antibiotika und
Michel M.; neue Wachstumsfaktoren in der Tierernährung,
Mai 1955, in Rom
28. ' uckey T.D.; Colloquium "Studies on the growth effect of
antibiotics in germ - free animals", gehalten
am 4. Juni 1952 im Lobund Institut, Universität
of Notre Dame, Indiana.
Mitteilung bei der "Informal Poultry Nutrition
Conference" Federation Meetings, San Francis-
ko 1955

29. Schole J.; Naturwissenschaften 40, 1953 555
30. Telkkä A.N.; Acta endocrinol. (Copenh.)
Kuusisto A.N.; 16, 365 - 368, 1954
31. Lücke R.W.; Science (Lancaster, Pa) 110, 139 - 140, 1949
Millen W.N.Mc.;
Thorp F.jr.;
Bouicce J.R.;
32. Wetzel N.C.; Science (Lancaster, Pa) 110, 651 - 653, 1949
Fargo I.H.;
Smith I.H.;
Helikson J.;
33. Nichol C.A.; Proc. Soc. exper. Biol. a.
Dietrich L.S.; Med. 70, 40 - 42, 1949
Cravens W.W.;
Elevehjen C.A.;
34. Emerson G.; Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 70, 392-394, 1949
35. Lücke R.W.; Arch. of Biochem. 26, 326 - 327, 1950
Millen W.N.Mc.;
Thorp F. jr.;
36. Miller R.C.; Proc. Soc. exper. Biol. a.
Gobble J.L.; Med. 78, 168 - 169, 1951
Kuhns L.J.;
37. Mirone L.; Nature (London) 173, 132 - 133, 1954
Wade E.M.;
38. Sauberlich H.E.; Antibiotics and Chemother. 9, 48 - 55, 1954
39. Johnson R.R.; J. of Biol. Chem. 218, 379 - 390, 1956
Bentley G.;
Moxon A.L.;

40. Truscott B.;
Hoogland P.L.;
Canad. J. Biochem. a. Physiol.
34, 191 - 196, 1956
41. Stapert E.M.;
Goff J.W.;
Stubberfield L.;
J. Amerc. Pharmacent. Assoc.
Scient. Ed.45, 309 - 311, 1956
42. Rege D.V.;
Sreenivasar A.;
Nature (London) 166, 1117, 1950
43. Soldo A.T.;
Arch. of Biochem. a. Biophysics
55, 71 - 76, 1955
44. Downing M.;
Schweigert B.S.;
J. of Biol. Chem. 220, 521 - 526, 1956
45. Lascelles J.;
Cross M.J.;
The University Press, 1955, 123
46. Sahasrabudha M.R.;
Rao M.V.L.;
Nature (London) 168, 605 - 606, 1951
47. Rose I.A.;
Schweigert B.S.;
Proc. Soc. exper. Biol. a.
Med. 79, 541 - 544, 1952
48. Rasch E.M.;
Swift H.;
Schweigert B.S.;
Proc. Soc. exper. Biol. a.
Med. 88, 637 - 640, 1955
49. Gomirato G.;
J. of Neuropath. 13, 359 - 368, 1954
50. Venkataraman P.R.;
Barnum C.P.;
Biochemic. J. 66, 694 - 699 1957
51. Arnstein H.R.V.;
The University Press 1955, 123
52. Ely C.A.;
Lücke R.W.;
ref. n.
Rupp G. Kraftfutter 1953, 2, 24

53. Perry T.W.; ref. n.
Rupp G. Kraftfutter 1953, 2, 24
54. Eder H.; Nutr. Abstr. Rev. Jan. 1957, 187
Horn V.;
55. Poling C.E.; Nutrition Abstracts Jan. 1957, 185
Eagle E.;
Rice E.E.;
56. Ullmann E.; Arzneimittelforschung 4, 88 - 93, 1954
57. Brüggemann J.; Kraftfutter 1954, Heft 5, 90
58. Kosterlitz J.; Physiol. 106, 194, 1947
59. Bergold G.; Naturforsch. 3b, 406, 1948
Pfister L.;
60. Mejbaum W.; Hoppe - Seyler's Z. phys. Ch. 258, 117, 1939
61. Liebig J. v.; "Die Tierchemie" 1843 38 - 41, 87 - 88
62. Brüggemann J.; Europäisches Symposium über Antibiotika
und neue Wachstumsfaktoren in der Tierer-
nährung. Mai 1955, Rom Kraftfutter 1955,
121 - 125
63. Hodgkin D.C.; 1. Europäisches Symposium über Vitamin B₁₂,
Mai 1956, Hamburg
64. Cunha T.H.; Arch. Biochem. 23, 324, 1949
65. Flaschenträger B.; Physiol. Chemie, die Stoffe
Lehnartz E.; Springer-Verlag 1951, 823
66. Flaschenträger B.; Physiolog. Chemie des Stoffwechsels 1954,
Lehnartz E.; 1105 Springer-Verlag

67. Flaschenträger B.; Physiol. Chemie des Stoffwechsels 1954,
Lehnartz E.; 1182 Springer-Verlag
68. Siegner R.; Nature 141, 122, 1938
Gaspersson T.;
Hammarsten F.;
69. Schaffrath J. Dissertationsschrift Universität München 1957
70. Lev M.; Brit. J. Nutr. 13, 78, 1959
Forbes M.;
71. Forbes M.; J. Nutr. 67, 69, 1959
Park, J. T.;
72. Brüggemann J.; Vitamine und Hormone 7, 338, 1956
Karg H.;
Schole J.;
73. Brüggemann J.; Vitamine und Hormone 8, 362, 1959
Schole J.;
74. Schole J.; Vitamine und Hormone 8, 78, 1958
75. Mendez - Raineteau P.; Dissertationsschrift Universität München 1959
76. Menke K.-H. Dissertationsschrift Universität Bonn 1955

Zum Abschluß der Arbeit gilt mein besonderer Dank Herrn Professor Dr. Dr. Brüggemann für die Überlassung des Themas und für die großzügig gewährten Arbeitsmöglichkeiten in seinem Institut.

Ferner gebührt mein Dank Herrn Dr. Niessar, der mich bei der Durchführung der Versuche und bei der Abfassung der Arbeit beraten hat.

LEBENS LAUF

Am 25. September 1934 wurde ich als jüngstes von fünf Kindern des praktischen Tierarztes Dr. Franz Kleist und seiner Ehefrau Annemarie geborene Christ, in Gergweis, Kreis Osterhofen, Niederbayern, geboren.
Von 1940 - 1944 besuchte ich die Volksschule in Friedberg bei Augsburg und 1944 für ein halbes Jahr die Volksschule in Gergweis.

Von Herbst 1944 an besuchte ich das Realgymnasium in Augsburg, wo ich im Juni 1953 das Reifezeugnis erwarb.

Im Wintersemester 1953/54 begann ich mit dem Studium der Veterinärmedizin an der Universität München.
Im Frühjahr und Sommer 1955 legte ich die tierärztliche Vorprüfung ab, und am 10.7.1958 bestand ich die tierärztliche Prüfung.

